

اثرات اینوتروپیک و کرونوتروپیک عصاره آبی الکلی کلپوره بر قلب ایزوله خوکچه هندی

سعید نیازمند^{۱*}، محمود عرفانیان احمدپور^۲، مریم موسویان^۳، زهرا صابری^۳

۱- استادیار گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مشهد ۲- استادیار گروه علوم تشریحی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

سابقه و هدف: کلپوره گیاه دارویی است که اثرات ضد دیابت، ضد چربی خون، ضد میکروبی و کاهش دهنده فشار خون آن گزارش شده است، هدف از این تحقیق، بررسی اثرات اینوتروپیک و کرونوتروپیک عصاره آبی - الکلی کلپوره بر قلب ایزوله خوکچه هندی می باشد

مواد و روشها: این مطالعه تجربی بر روی ۲۴ خوکچه هندی نژاد Dunkin Hartly (۴۵۰-۳۵۰ گرم) صورت گرفته است. حیوانات بطور تصادفی به سه گروه ۸ تایی، گروه اول (کربس کلسیم دار)، گروه دوم (کربس بدون کلسیم) و گروه سوم (کربس محتوی دیلتیازم) تقسیم شدند. در هر گروه، قلب پس از کانول گذاری آئورت جدا شده و به دستگاه لانگندورف با فشار ثابت متصل شد. قلب با غلظتهای مختلف عصاره آبی- الکلی کلپوره به مدت ۱ دقیقه پرفیوژن گردیده و قدرت انقباضی و ضربان قلب ثبت کامپیوتری شدند.

یافته ها: عصاره کلپوره در هر سه گروه مورد آزمایش توانست بطور معنی داری قدرت انقباض و ضربان قلب را افزایش دهد که این اثر وابسته به غلظت نبود. مقایسه بین گروهها نشان داد که بین گروه اول با سوم و نیز بین گروه دوم با سوم از جهت تاثیر عصاره بر قدرت انقباض و ضربان قلب اختلاف معنی داری وجود دارد.

نتیجه گیری: عصاره آبی الکلی کلپوره اثر اینوتروپیک و کرونوتروپیک مثبت بر قلب ایزوله خوکچه هندی داشته که احتمالاً از طریق اثر آگونیستی بر کانالهای کلسیمی نوع L صورت می گیرد.

واژه های کلیدی: کلپوره، قلب ایزوله، ضربان قلب، قدرت انقباضی قلب، خوکچه هندی، کانال کلسیمی نوع L

دریافت: ۸۶/۴/۲۷، ارسال جهت اصلاع: ۸۶/۸/۲، پذیرش: ۸۶/۱۱/۳

مقدمه

در چند سال اخیر گرایش به مصرف داروهای گیاهی و استفاده از این داروها در درمان و پیشگیری از بیماری ها در سطح جهان و بخصوص ایران به طور چشم گیری افزایش یافته است. یکی از گیاهانی که در طب سنتی برای ناراحتیهای گوارشی و نیز رفع درد قلب کاربرد دارد گیاه کلپوره است. کلپوره (Teucrium polium) از تیره نعناع (Labiatae) گیاهی است علفی، پایا به ارتفاع ۳۰-۱۰ سانتیمتر، دارای ظاهر سفید پنبه ای که معمولاً در نواحی سنگلاخی و ماسه زارهای نواحی مختلف اروپا، منطقه مدیترانه، شمال آفریقا و جنوب غرب آسیا از جمله ایران در نواحی مختلف شمال، غرب، جنوب و مرکز ایران و کوهستانهای

نیمه خشک پراکندگی دارد (۱). مصرف دارویی آن به زمان بقراط و جالینوس بر می گردد و بخش دارویی آن که سر شاخه های گلدار آن می باشد، اثر مقوی و ضد تشنج داشته و مصرف آن را برای رفع بیماریهای دستگاه تناسلی - ادراری و تاخیر یا عدم قاعدگی مفید می دانند (۱). از این گیاه در طب سنتی جهت اثرات ضد دیابتی، ضد التهابی، ضد اولسری، آنتی اسپاسمودیک و رفع گرفتگی قلب استفاده می شود. تحقیقات علمی نشان داده اند که این گیاه دارای اثرات ضد دیابت (۴-۲) پایین آورنده کلسترول و تری گلیسرید سرم (۵)، [هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۸۵۱۴۴ از اعتبارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد تامین شده است.

کاهش دهنده فشار خون (۶)، ضد اشتها (۷)، ضد التهاب (۸)، آنتی اکسیدان (۹ و ۱۰)، ضد تب و ضد میکروب (۱۱) و ضد درد (۱۲-۱۴)، ضد اسپاسم (۱۵ و ۱۶) و آنتی اولسری (۱۶) می باشد.

در بررسیهای انجام شده بر روی گیاه کلپوره مشخص شده است که این گیاه حاوی مقادیری تانن، ترپنوئیدها، ساپونین، استرول، فلاونوئید، گلیکوزید، آلفا و بتا پینن و لوکوآنتوسیانین است (۱۷-۱۹)، این گیاه دارای اثر آنتی باکتریال بوده ولی دارای اثر ضد قارچی بارزی نمی باشد (۲۰). اثرات ضدانقباضی این گیاه بر رحم موش صحرایی باکره نیز بررسی شده است (۲۱). در مورد اثر این گیاه بر قلب گزارشی در دست نیست. با توجه به اثرات کاهش دهنده فشار خون و نیز کلسترول و تری گلیسیرید پلاسما که برای این گیاه گزارش شده است و نیز مصرف آن در طب سنتی برای رفع گرفتگی قلب، بررسی اثرات قلبی آن ضروری بنظر می رسد. این تحقیق اثرات کرونوتروپیک و اینوتروپیک عصاره آبی الکلی کلپوره را بر قلب ایزوله خوکچه هندی و مکانیسم احتمالی این اثرات را مورد بررسی قرار می دهد.

مواد و روشها

در این مطالعه از ۲۴ سر خوکچه هندی نر نژاد Dunkin Hartly با وزن تقریبی ۳۵۰-۴۵۰ گرم استفاده شده که بطور تصادفی به سه گروه ۸ تایی تقسیم شدند: در گروه اول اثر غلظت های مختلف (۲، ۱، ۰/۵ mg/ml) عصاره آبی-الکلی کلپوره بر قلب ایزوله که با محلول کربس (۳۷ درجه سانتی گراد و pH=۷/۴) پرفیوژن می شد بررسی گردید و در گروه دوم اثر همین غلظت ها بر قلب ایزوله که با محلول کربس بدون کلسیم پرفیوژن میشد بررسی شد و در گروه سوم آزمایشات فوق با محلول کربس محتوی دیلتیازم صورت گرفت. در سراسر دوره آزمایش خوکچه ها تحت شرایط استاندارد و درجه حرارت مطلوب حدود $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ و بصورت جمعی در اتاق حیوانات بیمارستان قائم دانشگاه علوم پزشکی مشهد نگهداری شدند.

۱۷۰ گرم از گیاه کلپوره جمع آوری شده از منطقه فردوس در خراسان جنوبی که توسط هرباریوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی گردیده بود را وزن کرده و در مقدار مشخصی الکل اتیلیک ۵۰٪ بمدت ۲۴ ساعت خیسانده، سپس محلول بدست آمده را از کاغذ صافی عبور داده و جهت تهیه عصاره خشک، محلول بدست آمده را

در Ban marry با درجه حرارت 45°C به مدت ۲۴ ساعت قرار دادیم. سپس از عصاره خشک بدست آمده غلظتهای ۲ و ۱ mg/ml و ۰/۵ را تهیه کردیم. در این مطالعه از تیوپنتال سدیم (mg/kg, ip) ۵۰ جهت بیهوشی خوکچه استفاده گردید.

حیوانات بطور تصادفی به سه گروه ۸ تایی تقسیم شدند در گروه اول قلب با محلول کربس پرفیوژن، در گروه دوم قلب با محلول کربس بدون کلسیم و در گروه سوم که قلب با محلول کربس محتوی دیلتیازم (با غلظت $10 \mu\text{m/L}$) پرفیوژن شد. برای جلوگیری از ایجاد ترومبوز در عروق کرونر از هیپارین استفاده شد (دوز مصرفی ۵۰۰ واحد به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن و بصورت داخل صفاقی). پس از بیهوشی، حیوان تراکتوستومی شده و به ونتیلاتور متصل گردید. سپس قفسه سینه را باز کرده و آئورت کانول گذاری شده و پس از برقراری پرفیوژن، قلب ایزوله شده به دستگاه لانگندورف منتقل گردید. عصاره آبی-الکلی کلپوره به مدت ۱ دقیقه به صورت انفوزیون به قلب داده شد. برای ثبت قدرت انقباضی قلب از ترانسدیوسر ایزوتونیک ساخت شرکت هاروارد استفاده شد. ثبت دامنه انقباضی و ضربان قلب به کمک نرم افزار و سخت افزار کامپیوتری طراحی شده برای اینکار انجام شد.

نتایج ارائه شده در نمودارها و اشکال بصورت Mean $\pm$ SEM است و جهت آنالیز آماری داده ها از آزمونهای t-test و ANOVA یک طرفه استفاده شد و $p < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شده است.

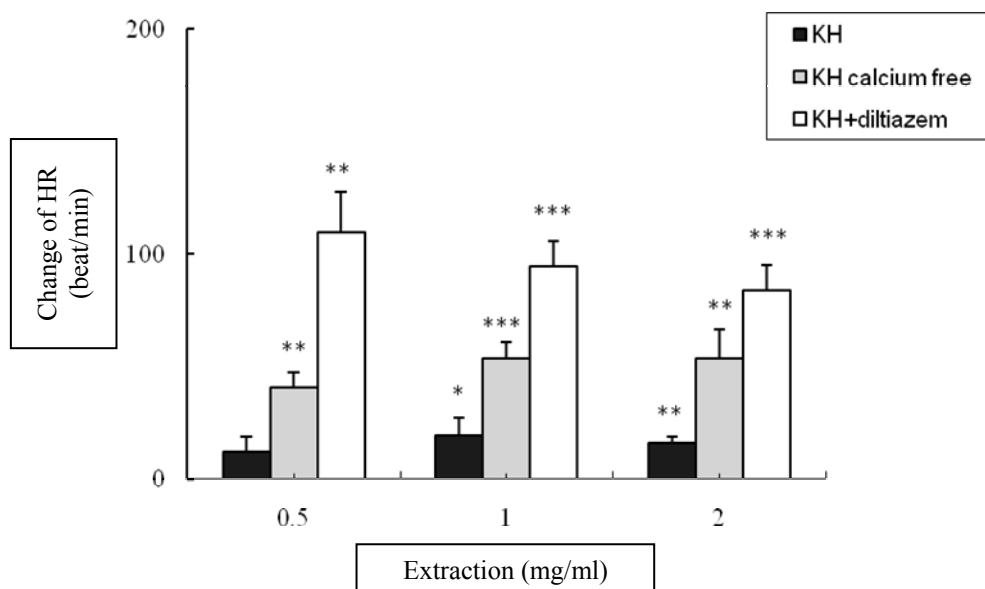
یافته ها

مقایسه میانگین تغییرات ضربان قلب قبل با بعد از انفوزیون عصاره آبی-الکلی کلپوره نشان می دهد که عصاره کلپوره توانسته است در دو غلظت ۲ و ۱ mg/ml ضربان قلب را بطور معنی داری افزایش دهد ولی افزایش ضربان قلب برای غلظت ۰/۵ mg/ml معنی دار نبود (نمودار شماره ۱). نتایج نشان می دهد که اثر عصاره بر ضربان قلب در غلظتهای بکار رفته وابسته به غلظت نیست. مقایسه میانگین درصد تغییرات ضربان قلب بعد از انفوزیون عصاره برای هر غلظت در بین سه گروه نشان می دهد که بین گروه اول و سوم و نیز گروه دوم و سوم برای هر سه غلظت مورد استفاده اختلاف معنی داری ($p < 0/001$) وجود دارد (نمودار شماره ۲).

بررسی میانگین تغییرات دامنه انقباضی قلب قبل با بعد از انفوزیون عصاره آبی-الکلی کلپوره نشان میدهد که عصاره کلپوره در

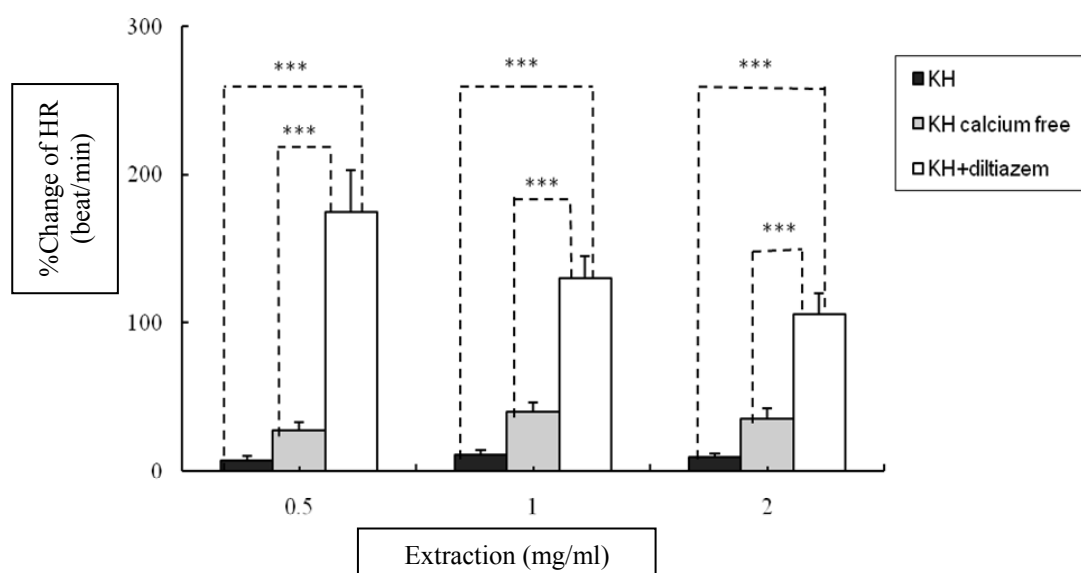
دامنه انقباضی قلب بین سه گروه آزمایش برای هر غلظت نشان می دهد که اختلاف معنی داری بین گروههای اول (کریس) و سوم (کریس + دیلتیازم) و نیز بین گروههای دوم (کریس بدون کلسیم) و سوم از جهت تغییر دامنه انقباضی قلب وجود دارد (نمودار شماره ۴).

هر سه غلظت بکار رفته سبب افزایش معنی دار در دامنه انقباضی قلب در هر سه گروه آزمایش شده است. نتایج نشان می دهد که این افزایش در دامنه انقباضی قلب در غلظتهای بکار رفته وابسته به غلظت نیست (نمودار شماره ۳). مقایسه میانگین درصد تغییرات



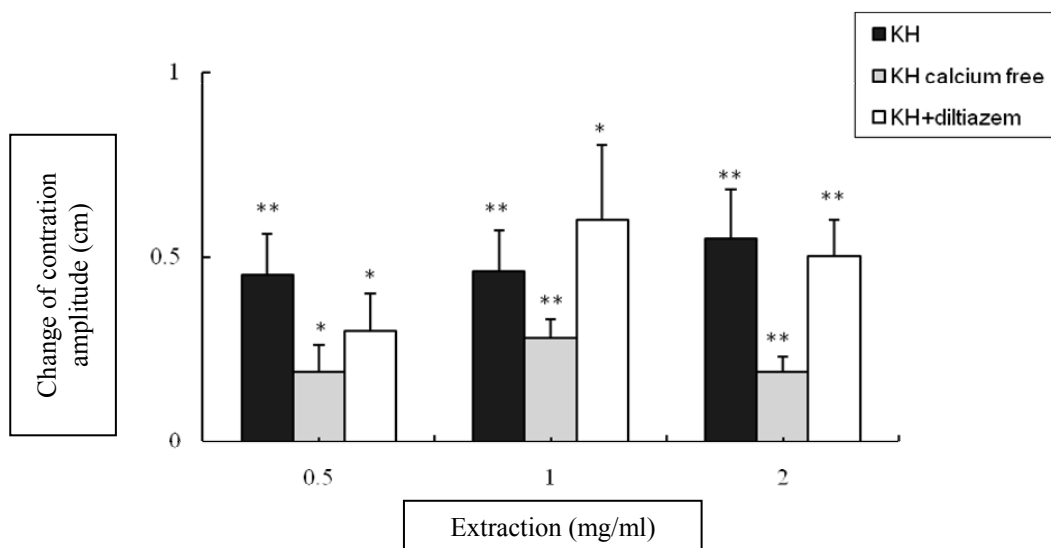
نمودار ۱. مقایسه میانگین تغییرات ضربان قلب قبل با بعد از انفوزیون غلظتهای مختلف عصاره آبی- الکلی کلپوره در ۳ گروه آزمایش. نتایج با استفاده از آزمون paired t-test بررسی شده است. افزایش ضربان قلب برای غلظت ۰/۵ ml/mg در گروه اول معنی دار نیست.

***p<0.001 ** p<0.01 * p<0.05 (n = 8)

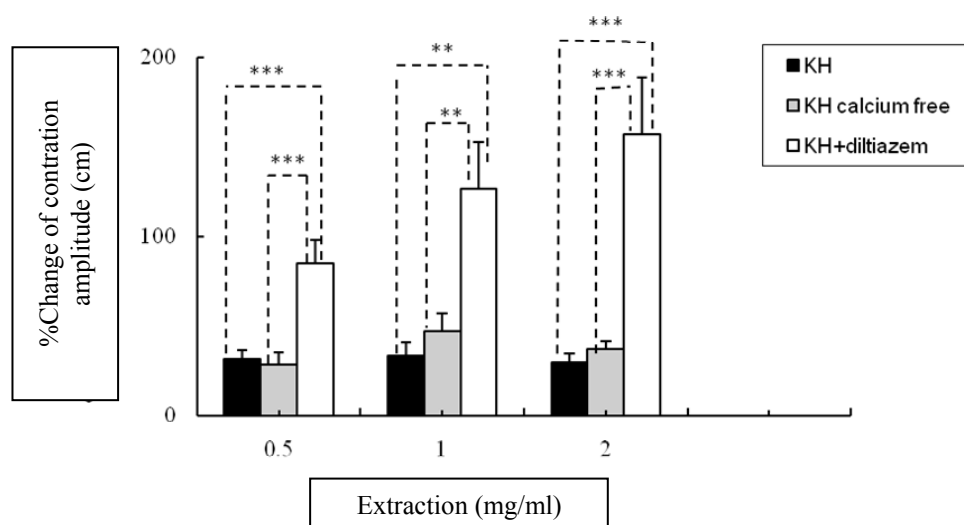


نمودار ۲. مقایسه میانگین درصد تغییرات ضربان قلب بین سه گروه برای هر غلظت عصاره آبی- الکلی کلپوره. نتایج با آزمون ANOVA یک طرفه بررسی شده است. افزایش ضربان قلب بین گروه اول و سوم و نیز دوم و سوم معنی دار می باشد.

*** p<0.001 (n = 8)



نمودار ۳. مقایسه میانگین تغییرات دامنه انقباضی قلب، قبل با بعد از انفوزیون غلظتهای مختلف عصاره آبی-الکی کلپوره در ۳ گروه آزمایشی. نتایج با استفاده از آزمون paired t-test بررسی شده است. عصاره آبی-الکی کلپوره در هر سه غلظت بطور معنی داری قدرت انقباضی قلب را افزایش داده است. $n=8$ * $p<0.05$ ** $p<0.01$



نمودار ۴- مقایسه میانگین درصد تغییرات قدرت انقباضی قلب ناشی از اثر هر غلظت عصاره آبی-الکی کلپوره $(0.5, 1, 2)$ mg/ml بین سه گروه آزمایشی. نتایج با استفاده از آزمون ANOVA یک طرفه بررسی شده است. تغییر قدرت انقباضی بین گروه اول و سوم معنی دار است $n=8$ ** $p<0.01$ *** $p<0.001$

بحث و نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان دهنده اثرات کرونوتروپیک مثبت عصاره آبی-الکی کلپوره در غلظتهای بکار رفته است (نمودار شماره ۱) که البته این تاثیر در محدوده غلظتهای بکار رفته وابسته به غلظت نبود. برای مقایسه اثر عصاره آبی-الکی کلپوره بین سه گروه آزمایشی که می تواند تا حدی مکانیسم اثر عصاره را روشن نماید میانگین درصد تغییرات ضربان قلب برای هر غلظت در سه گروه بدست آمد. وجود تفاوت معنی دار در میانگین درصد تغییرات

ضربان قلب بین گروههای اول (کریس) و سوم (کریس + دلتیازم) و نیز گروههای دوم (کریس بدون کلسیم) و سوم در هر سه غلظت بکار رفته نشان می دهد عصاره کلپوره بخوبی توانسته است اثر کاهنده ضربان قلب دلتیازم را که آنتاگونیست کانالهای کلسیمی نوع L است خنثی کرده و سبب افزایش ضربان قلب گردد (نمودار شماره ۲). از طرف دیگر تفاوت معنی داری بین گروه دوم و سوم نیز مؤید این امر است که عصاره کلپوره در حضور دلتیازم توانسته است

بخوبی ضربان قلب را افزایش دهد. معنی دار نبودن افزایش ضربان قلب بین گروههای اول و دوم تایید کننده این تفسیر می باشد که تفاوتی در اثر کرونوتروپیک عصاره در شرایطی که قلب با محلول کربس دارای کلسیم و محلول کربس بدون کلسیم پرفیوژن می شود وجود ندارد. بنابر این عصاره آبی-الکلی کلپوره بخوبی توانسته است در رقابت با دیلتیازم اثر بلوک کنندگی کانالهای کلسیمی نوع L را حذف کرده و ضربان قلب را بطور معنی داری در مقایسه با گروههای اول و دوم افزایش دهد.

همچنین نتایج مقایسه میانگین تغییرات دامنه انقباضی قلب قبل با بعد از انفوزیون عصاره آبی-الکلی کلپوره نشان دهنده اثرات اینوتروپیک مثبت عصاره است (نمودار شماره ۳). برای روشن شدن مکانیسم این اثر، میانگین درصد تغییرات دامنه انقباضی قلب در سه گروه برای هر سه غلظت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دهنده وجود اختلاف معنی داری بین گروههای اول (کربس) و سوم (کربس + دیلتیازم) و نیز گروههای دوم (کربس بدون کلسیم) و سوم برای هر سه غلظت است (نمودار شماره ۴). این یافته ها نشان میدهد که عصاره کلپوره بخوبی توانسته است اثر کاهشی دیلتیازم روی دامنه انقباضی قلب را بلوک کرده و سبب افزایش معنی دار در دامنه و قدرت انقباضی قلب گردد. اختلاف معنی دار بین گروههای دوم و سوم نیز تایید کننده این یافته است که در گروه سوم عصاره

کلپوره توانسته است اثر مهار کنندگی دیلتیازم روی کانالهای کلسیمی نوع L را بخوبی حذف کرده و موجب افزایش معنی داری در دامنه و قدرت انقباضی قلب در این گروه در مقایسه با گروه دوم گردد. از طرف دیگر عدم تفاوت در دامنه انقباضی قلب بین گروههای اول و دوم نیز تأییدی بر این امر است. در مجموع از یافته های فوق می توان نتیجه گرفت که عصاره آبی-الکلی کلپوره همانند آگونیست کانالهای کلسیمی نوع L در قلب عمل کرده و اثر دیلتیازم بعنوان آنتاگونیست این کانالها را بخوبی خنثی کند. بنابراین بخشی از اثرات کرونوتروپیک و اینوتروپیک مثبت عصاره کلپوره از طریق تاثیر بر کانالهای کلسیمی نوع L اعمال می شود. افزایش ضربان و دامنه انقباضی قلب در گروههای اول و دوم می تواند ناشی از وجود ترکیباتی با اثر کرونوتروپیک و اینوتروپیک مثبت در عصاره آبی-الکلی کلپوره باشد که با مکانیسمی مستقل از کلسیم خارج سلولی عمل می نمایند.

نتایج بدست آمده از تاثیر غلظتهای استفاده شده عصاره کلپوره بر قلب، وابستگی به غلظت نشان نمی دهند. با توجه به اینکه مطالعه حاضر اولین مطالعه انجام شده در مورد تاثیر عصاره این گیاه بر قلب ایزوله می باشد این احتمال وجود دارد که در غلظتهای استفاده شده ما شاهد حداکثر پاسخ قلب بوده ایم و در صورت تغییر غلظتهای مورد استفاده شاید بتوان اثر پاسخ - غلظت را مشاهده کرد.

منابع

۱. زرگری ع. گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ پنجم، تهران، انتشارات دانشگاه تهران ۱۳۷۲؛ ص: ۱۳۰-۱.
2. Gharaibeh MN, Elayan HH, Salhab AS. Hypoglycemic effects of *Teucrium polium*. J Ethnopharmacol 1988; 24(1): 93-9.
3. Khleifat K, Shakhaneh J, Tarawneh K. The chronic effects of *Teucrium polium* on some blood parameters and histopathology of liver and kidney in the rat. Turk J Biol 2002; 26: 65-71.
4. Shahraki MR, Arab MR, Mirimokaddam E, Palan MJ. The Effect of *Teucrium polium* (Calpoureh) on liver function, serum lipids and glucose in diabetic male rats. Iran Biomed J 2007; 11(1): 65-8.
5. Rasekh HR, Khoshnood Mansourkhani MJ, Kamalinejad M. Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. Fitoterapia 2001; 72(8): 937-9.
6. Bello R, Beltran B, Calatayud S, Esplugues J, Moreno L, Primo Yúfera E. Effects on arterial blood pressure of the methanol extracts from different *Teucrium* species. Phytothe Res 1997; 11(4): 330-1.
7. Tariq M, Ageel AM, Al Yahya MA, Mossa JS, Al Said MS. Anti-inflammatory activity of *Teucrium polium*. Int J Tissue React 1989; 11(4): 185-8.

8. Sharifian Z, Vodgani M, Hajati Pour J, Kamalinejad M. Immunological effects of *Teucrium polium* on neutrophils. *Iranian J Pharm Res* 2004; 3(Supl 2): 61.
9. Couladis M, Tzakou O, Verykokidou E, Harvala C. Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. *Phytother Res* 2003; 17(2): 194-5.
10. Ljubuncic P, Dakwar S, Portnaya I, Cogan U, Azaizeh H, Bomzon A. Aqueous extracts of *Teucrium polium* possess remarkable antioxidant activity in vitro. *Evid Based Complement Alternat Med* 2006; 3(3): 329-38.
11. Autore G, Capasso F, De Fusco R, et al. Antipyretic and antibacterial actions of *Teucrium polium* (L.). *Pharmacol Res Commun* 1984; 16(1): 21-9.
12. Abdollahi M, Karimpour H, Moncef Esfehiani HR. Antinociceptive effects of *Teucrium polium* L. total extract and essential oil in mouse writhing test. *Pharmacol Res* 2003; 48(1): 31-5.
13. Baluchnejadmojarad T, Roghanib M, Roghani Dehkordi F. Antinociceptive effect of *Teucrium polium* leaf extract in the diabetic rat formalin test. *J Ethnopharmacol* 2005; 97(2): 207-10.
14. Parsaee H, Shafiee Nick R. Anti spasmodic and anti nociceptive effects of *Teucrium polium* aqueous extract. *IBJ* 2006; 10(3): 145-9.
15. Niazmand S, Hajzadeh M, Keshavarzi Z. The effects of aqueous extract from *Teucrium polium* L. on rat gastric motility in basal and vagal stimulated conditions. *Iranian J Basic Medical Sciences* 2007; 10(1): 60-5.
16. Twaij HA, Al Badr AA, Abule Khail A. Anti ulcer activity of *Teucrium polium*. *Int J Crude Drug Res* 1987; 25: 125-8.
17. Oganessian GB, Galstyan AM, Mnatsakanyan VA, Shashkov AS, Agababyan PV. Phenylpropanoid glycosides of *Teucrium polium*. *Chem Nat Compd* 1992; 27(2): 556-9.
18. Aburjai T, Hudaib M, Cavrini V. Composition of the essential oil from Jordanian Germander (*Teucrium polium* L.). *JEOR* 2006; 68-72.
19. Popa DP, Tkhuk FA, Salei LA. Diterpenoids of *Teucrium polium*. The structure of teucrin P₁. *Chem Nat Compd* 1977; 13(1): 42-5.
۲۰. مصدق م، دهموبد شریف آبادی آ، نصیری پ، اسماعیلی س، نقیبی ف. بررسی فیتوشیمیایی دو گیاه کاسنی و کلپوره و سنجش اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی آنها. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان ۱۳۸۱؛ ۷(۲۵): ۱-۶.
۲۱. غریب ناصری م ک، امیدی بیرگانی ف، وکیل زاده گ. اثر ضدانقباضی گیاه کلپوره بر رحم موش صحرایی باکره. مجله علوم پایه پزشکی ایران ۱۳۸۴؛ ۸(۱): ۷-۳۱.

THE INOTROPIC AND CHRONOTROPIC EFFECTS OF AQUEOUS ETHANOLIC EXTRACT FROM TEUCRIUM POLIUM L. ON GUINEA PIG ISOLATED HEART

S. Niazmand (PhD)^{1*}, M. Erfanian Ahmadpour (PhD)², M. Mousavian (BSc)³, Z. Saberi (BSc)³

1. *Assistant Professor of Physiology, Mashhad Univ Medical Sciences, Mashhad, Iran, Saeed_niazmand@yahoo.com,

2. Assistant Professor of Anatomy, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, Iran, 3. MSc Student in Physiology, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, Iran

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Teucrium polium L. (TP) is widely used in traditional medicine. There are some reports on antidiabetic, antihyperlipidemic and antibacterial effects of TP. The aim of this study was to investigate the inotropic and chronotropic effects of aqueous-ethanolic extract from TP on guinea pig isolated heart.

METHODS: In this experimental study, 24 Dunkin Hartley guinea pigs weighted 350-450 g were used. The animals randomly divided into three groups (8 in each group): group 1 which the heart perfused by Krebs solution, group 2 which the heart perfused by Krebs calcium free solution and group 3 which the heart perfused by Krebs+diltiazem solution. The heart isolated after the aorta cannulated and connected to Langendorff setup. Three concentration of aqueous-ethanolic extract from TP were infused to the heart for 1 minute. The heart rate and contractility recorded by computer.

FINDINGS: The TP extract increased significantly the heart rate (HR) and contractility in all three groups. This effect was not concentration dependent. Comparing mean percent changes of HR and contractility between three groups showed a significant difference between groups 1 and 3 and also between groups 2 and 3, but the difference between groups 1 and 2 was not significant.

CONCLUSION: The aqueous ethanolic extract from TP has a positive chronotropic and inotropic effects on guinea pig isolated heart. The extract has an agonistic effect on L-type calcium channels.

KEYWORDS: *Teucrium polium L., Isolated heart, Heart rate, Heart contractility, Guinea pig, L-type calcium channel.*

Journal of Babol University of Medical Sciences 2008; 10(1): 7-13

Received: September 17th 2007, Revised: October 23rd 2007, Accepted: January 22nd 2008