Archive of SID

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان

سال هشتم، شمارهٔ ۱ (مسلسل۲۹)، پائیز ۱۳۸۲

بررسی اثر تک دوز تراتوژنیک والپروئیک اسید بر غلظت روی موجود در پلاسما در موشهای صحرایی ماده

مرتضی ابوذری پور[1*]، دکتر محمد بربرستانی[2]، دکتر پریچهر پاسبخش[3]، دکتر شهریار غریب‌زاده[4]

چکیده

- **مقدمه:** والپروئیک اسید داروی ضد صرع و ضدتشنج شناخته شده‌ای است که ناهنجاری‌زایی بالقوه آن در ایجاد نقایص لولهٔ عصبی به اثبات رسیده است و در صورت تماس با این دارو در طی هفته‌های اول بارداری بروز نقایص فوق ۲-۱٪ افزایش می‌یابد. میل ترکیبی این دارو در اتصال به روی و بروز بالای نقایص لولهٔ عصبی در مناطقی از جهان که مبتلا به نقصان روی هستند موجب گردید برای تعیین مکانیسم احتمالی والپروئیک اسید در ایجاد این نقایص به بررسی اثر این دارو بر غلظت پلاسمایی روی در رت‌های ماده بپردازیم.
- **مواد و روشها:** در این مطالعهٔ تجربی از دو گروه استفاده شد. هر گروه شامل ٦ موش صحرایی ماده از نژاد آلبینو با وزن ۲۵۰گرم بود که تحت شرایط یکسان محیطی و تغذیه‌ای قرار داشتند و به روش تصادفی انتخاب شده بودند. تک دوز تراتوژنیک والپروئیک اسید را با دوز ۳۵۰mg/kg به روش داخل صفاقی به رت‌های گروه تجربی تزریق کرده و رت‌های گروه کنترل نیز نرمال سالین را با دوز ٤ ml/kg دریافت کردند. غلظت روی پلاسما توسط دستگاه جذب اتمی سنجیده شد و مقایسه توسط روش آماری t-test صورت گرفت، سپس برای تأیید نتایج ازتست من‌ویتنی‌یو استفاده شد.
- **یافته‌ها:** میانگین روی پلاسما در گروه تجربی (۲/۲۳±۲۷/۹۶)، پایین‌تر از گروه کنترل (۰/۵۷۹ ± ۴۲/۲) بود (t=۱۵/۱٤ و p=۰/۰۰۰).
- **نتیجه‌گیری:** والپروئیک اسید موجب کاهش سطح روی در پلاسما می‌گردد که این را می‌توان به عنوان یکی ازمکانیسم‌های ایجاد کنندهٔ نقایص لوله عصبی توسط والپروئیک اسید دانست.

- **واژه‌های کلیدی:** والپروئیک اسید، نقایص لولهٔ عصبی، روی، پلاسما

[*] ۱- کارشناس ارشد آناتومی، عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده پزشکی، خیابان پاسداران، سنندج، مؤلف مسؤول

۲- دانشیار آناتومی،دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دانشیار آناتومی،دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- استادیار فیزیولوژی،دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

والپروئیک اسید یک داروی ضد تشنج و ضد صرع است که در درمان حملات ساده یا کمپلکس صرع، حملات چندگانهٔ صرع ازجمله صرع کوچک و حملات میوکلونیک مصرف می‌گردد (۱).

مکانیسم دقیق ضد تشنجی این دارو ناشناخته است ولی ممکن است سطح نوروترانسمیتر گابا را در مغز افزایش دهد. از دیگر مکانیسم‌های احتمالی آن می‌توان اثر بر روی گیرنده‌های پس سیناپسی برای تقلید یا افزایش اثر مهاری گابا، مهارآنزیمی که موجب کاتابولیز گابا می‌گردد، اثر بر روی پمپ پتاسیم و یا اثر مستقیم بر روی ثبات غشاء سلولی را ذکر کرد(۲).

تقریباً ۹۰٪ از این دارو به پروتئینهای پلاسما متصل می‌شود، سپس درکبد متابولیزه شده و متابولیت غیر فعال آن از طریق ادرار دفع می‌گردد، البته مقادیر جزئی از آن ممکن است از راه مدفوع دفع گردد.

تراتوژن بودن اسیدوالپروئیک که یکی از بارزترین اثراتش شامل نقایص لولهٔ عصبی در انسان است، ثابت گردیده است (۳).

طبق آمار ایالات متحدهٔ آمریکا از زنان مبتلا به صرع حدود یک میلیون نفر هر ساله باردار می‌شوند (۴) که از بین آنها ۱۰۰۰-۷۰۰ نفر والپروئیک اسید دریافت می‌دارند (۵).

بروز نقایص لولهٔ عصبی نیز حدود ۱/۳مورد در هر ۱۰۰۰ تولد زنده گزارش شده است (۶).

دو فرم نسبتاً شایع نقایص لولهٔ عصبی اسپینابیفیدا (Spinabifida) و انسفالی (Enencephaly) هستند که به ترتیب ناشی از نقص در بسته شدن نوروپور خلفی و قدامی لولهٔ عصبی در دورهٔ رویانی می‌باشند.

برای درک مکانیسم اثر تراتوژنیک والپروئیک اسید مطالعات متنوعی صورت گرفته است، در مطالعه‌ای در رت‌های تحت درمان طولانی با والپروئیک اسید (VPA) سطح روی و سلنیوم پلاسما کاهش یافته بود (۷)، به علاوه با تحقیقات متعددی معلوم گشت که (VPA) بسهولت با روی باند می‌گردد (۸) لذا مصرف والپروئیک اسید موجب کاهش روی می‌گردد که خود بسیار ناهنجاری‌زا می‌باشد. ناهنجاری‌هایی که همراه با مصرف والپروات و کمبود روی (Zn) در هنگام تولید مثل گزارش شده است شامل نقایص لولهٔ عصبی، تکامل ناقص دنده‌ها، کوچکی چانه (Micrognatia)، چسبیدگی یا فقدان انگشتان و کاهش وزن مغز می‌باشد (۹).

طبق گزارش Sever & Emmanule به دلیل بروز بالای این آنومالی‌ها در مناطقی ازجهان که نقصان روی وجود دارد به نظر می‌رسد بین نقایص لولهٔ عصبی و نقصان روی مادری

www.SID.ir

Archive of SID

رابطه‌ای وجود داشته باشد. به علاوه گزارش نقایص لولهٔ عصبی در نوزادانی که مادرانشان مبتلا به آکرودرماتیت انتروپاتیک (Acrodermatitis enteropathica) بوده‌اند رابطهٔ بین این نقایص و روی را بیشتر توجیه می‌نماید (۱۰).

با توجه به نتایج این دو محقق، قبول هر دو یافتهٔ ناهنجاری‌زایی و عوارض جانبی والپروئیک اسید و همچنین کمبود روی این فرضیه را حمایت می‌کند که مشکلات ناشی از تجویز والپروئیک اسید ممکن است از طریق تغییر درسطح روی پلاسما حادث شده باشد.

کاهش سطح روی در پلاسما نیز با مکانیسم‌های مختلف می‌تواند ایجادکنندهٔ نقایص جنینی باشد.

مطالعات نشان داده‌اند که کمبود روی در حیوانات موجب از بین رفتن اتصال تیمیدین به DNA می‌گردد و کمبود روی ممکن است به عنوان یک واسطه موجب تخریب بیوسنتز DNA گردد، از طرفی در سال ۱۹۶۳، Liberman و همکارانش گزارش کردند که چندین آنزیم مورد نیاز جهت سنتز اسیدنوکلئیک در میکروارگانیسم‌ها به روی نیازمند است (۱۱).

مجهول بودن مکانیسم اثر والپروئیک اسید در ایجاد نقایص لولهٔ عصبی، ریسک بالای این نقایص، بروز بالای نقایص لولهٔ عصبی در مناطقی از جهان که مادران مبتلا به نقصان روی هستند و نیز نتایج حاصل از تحقیقات متعدد در مورد رابطهٔ والپروئیک اسید و روی موجب گردید برای کشف مکانیسم احتمالی والپروئیک اسید به بررسی سطح روی (Zinc) پلاسما بپردازیم.

مواد و روشها

در این تحقیق از موشهای صحرایی نژاد آلبینو (Albino) استفاده شد. این حیوانات که به روش کاملاً تصادفی انتخاب شده بودند، درمحیطی با درجه حرارت ۲۰ درجهٔ سلسیوس و رطوبتی به میزان ۶۰-۵۰ درصد با سیکل روشنایی ۱۲ساعته نگهداری شدند. تغذیهٔ موش‌ها از غذای آماده شده و استاندارد شرکت پارس و ازآب لوله‌کشی شهری بود.

موشهای انتخاب شده دارای وزن ۲۵۰گرم بودند، که در ۲ گروه ۶ تایی درون قفسهای مخصوص نگهداری می‌شدند.

گروه اول گروه کنترل بوده نرمال سالین را با دوز(۴ ml/kg) و گروه دوم گروه تجربی بوده والپروئیک اسید را با دوز ۳۵۰mg/kg به روش داخل صفاقی دریافت می‌کردند.

۲۴ ساعت پس از تزریقات، موش‌ها به روش گردن زدن ساکریفای[1] شده، خون لازم برای تهیهٔ پلاسما درون

1- Sacrifice

www.SID.ir

Archive of SID

لوله‌های آزمایش جمع‌آوری شده و توسط دستگاه سانتریفوژ پلاسمای آن جدا گردید. پلاسما توسط Samplerهای اپندروف جدا شد و درون کاپ های اپندروف ریخته شد و تا زمان آزمایش بعدی در درجه حرارت منهای ۷۲ درجهٔ سلسیوس نگاهداری گشت.

در این تحقیق برای مقایسهٔ نتایج از روش آماری t-test استفاده شد، سپس برای مقایسه میانگین‌ها از تست من‌ویتنی‌یواستفاده گردید.

روش اندازه‌گیری روی: اندازه‌گیری روی در پلاسما به روش Henkin و همکارانش (۱۲) و توسط دستگاه جذب اتمی بدون شعله با مدل شیمادزو صورت گرفت. تمامی ظروف مورد استفاده قبلاً به دقت شسته شده و سپس به مدت ۲٤ساعت در محلول ۲ درصد اتیلن‌دی‌آمین تراستیک اسید (EDTA) قرار می‌گرفت، جهت پاک شدن مقادیر احتمالی روی ظرف‌ها به مدت چندین ساعت درآب دیونیزه و نهایتاً در ظرف حاوی محلول اسیدنیتریک ۰/۲ درصد قرار می‌گرفتند. پس از این عمل ظروف ۵ بار توسط آب دیونیزه شستشو داده می‌شدند.

در خاتمه جهت کسب اطمینان کامل مبنی بر اینکه هیچ گونه آلودگی در ظروف شستشو داده شده وجود ندارد، پس از آخرین شستشو مقداری آب دیونیزه وارد هر کدام از ظروف نموده و میزان جذب ناشی از آن توسط دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری می‌شد.

چنانچه این میزان با جذب خوانده شده توسط بلانک یکی بود، ظروف مورد استفاده قرار می‌گرفت، در غیر این صورت شستشو تکرار می‌شد.

تهیهٔ منحنی استاندارد روی: پس از آماده سازی ظروف و وسایل لازم، با استفاده از یک گرم پودر روی، استاندارد ۱۰۰۰ppM روی با کمک آب دیونیزه و اسیدکلریدریک ساخته شد. به کمک این استاندارد، استانداردهای کاری ٤۰ppb و ۲۰،۱۰، ۵ ساخته شدند. آب دیونیزهٔ دو بار تقطیرشده به عنوان بلانک انتخاب گردید.

هر کدام از استانداردها سه بار و هر بار ۵ میکرو لیتر بطور جداگانه به داخل کوره دستگاه جذب اتمی تزریق می‌گشت. در صورتی که اختلاف سه پیک (Peak) حاصله بیشتر یا مساوی ۱۰٪ بود برای بار چهارم یا پنجم تزریق تکرار می‌شد. پس از اندازه‌گیریهای مکرر مشخص شد که منحنی کالیبراسیون روی تنها در محدودهٔ حداکثر تا ٤۰ppb خطی می‌باشد.

قبل از تزریق استانداردها به داخل کوره برنامهٔ پنج سیکل حرارتی به دستگاه داده می‌شد. این پنج سیکل حرارتی شامل: خشک کردن، خاکسترکردن، اتمیزه کردن نمونه و پاک کردن و سردکردن کوره گرافیتی

www.SID.ir

Archive of SID

می‌باشد که بطور خلاصه در جدول (شمارهٔ ۱) شرایط دستگاهی هر مرحله شامل درجه حرارت، زمان، جریان گاز و نوع افزایش درجهٔ حرارت Step/Ramp آمده است.

جدول شمارهٔ ۱ : سیکل‌های حرارتی مورداستفاده جهت اندازه‌گیری نمونه‌ها واستانداردهای روی

مرحله	درجه حرارت(سلسیوس)	زمان(ثانیه)	وضعیت دستگاه (Step/Ramp)	جریان گاز (لیتر در دقیقه)
خشک کردن	۱۵۰	۳۰	S	۱/۵
خاکستر کردن	۳۰۰	۲۰	S	۱/۵
اتمیزه کردن	۱۳۰۰	۳	S	۰
پاک کردن	۲۵۰۰	۲	S	۱/۵
سرد کردن	۰	٤۰	S	۱/۵

گاز مورد استفاده در این دستگاه، آرگون با درجه خلوص ۹۹۹/۹۹٪ بود. میزان جریان گاز ۱/۵لیتر در دقیقه تنظیم شد. لازم به ذکر است که جهت جلوگیری از به هدر رفتن نمونه، میزان جریان گاز درمرحلهٔ اتمیزه شدن صفر بود. از لامپ دوتریوم نیزجهت تصحیح زمینه استفاده می‌شد. طول موج انتخابی نیز همان طول موج مربوط به روی یعنی ۲۱۳/۹ نانومتر (nm) بود.

یافته‌ها

غلظت روی موجود در پلاسمای نمونه‌ها طبق جداول زیر بدست آمد:

جدول شمارهٔ ۲: غلظت (PPb) روی پلاسمای نمونه‌های گروه کنترل

شمارهٔ نمونه	جذب اتمی (ABS)	غلظت روی
۱	۱/۰۲۷	٤۲/۵۹۳
۲	۱/۰٤۵	٤۱/۵۰۰
۳	۱/۱۷۵	٤۲/۷۲۵
٤	۱/۰۹٦	٤۲/۹۰۰
۵	۱/۱۲۱	٤۱/۷۲۵
٦	۱/۱۲۱	٤۱/۹۷۵

جدول شمارهٔ ۳: غلظت (ppb) روی پلاسمای نمونه‌های گروه تجربی

شمارهٔ نمونه	جذب اتمی (ABS)	غلظت روی
۱	۰/۸۰۹	۲۳/۵۳۸
۲	۰/۷۸۹	۲۹/٤٤۹
۳	۰/۸۰٦	۲۷/۹۷۵
٤	۰/۸٦٤	۲۹/۲۲٤
۵	۰/۸۱۳	۲۸/۵۰۱
٦	۰/۷۸۸	۲۹/۱۰۲

جدول شمارهٔ۴: تغییرات غلظت روی موجود در پلاسما در مقایسه با گروه کنترل

گروه	تعداد	میانگین حسابی	انحراف معیار	میانگین رتبه‌ای
کنترل	۶	۴۲/۲	۰/۵۷۹	۹/۵
تجربی	۶	۲۷/۹۶	۲/۲۳	۳/۵

p=۰/۰۰۴

غلظتها با واحد ppb می‌باشند ولی از آنجایی که مجبور به رقیق کردن نمونه‌ها به میزان ۲۰ برابر شدیم برای تعیین غلظت واقعی (Actual Concentration) هر یک از نمونه‌ها باید عدد حاصله را در ۲۰ ضرب نماییم که البته در مقایسه دوگروه تغییری ایجاد نخواهد کرد.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

تراتوژنیسیتی بالقوه والپروئیک اسید با بارزترین اثراتش شامل نقایص لولهٔ عصبی در مقالات متعددی شرح داده شده است (۱۵-۱۳)، اما تا به حال مکانیسم اثر تراتوژنیسیتی آن مجهول باقی مانده است. Hurd RW و همکارانش در سال ۱۹۸۱ عنوان کردندکه VPA به سهولت با روی باند می‌گردد(۸)، در سال ۱۹۸٤ نیز Daffron JC, Kasarkis EJ با تزریق دوزهای مختلف والپروئیک اسید (۷۵۰mg/kg×7day، ۵۰۰ mg/kg، ۱۰۰mg/kg) به رت به این نتیجه رسیدند که در مقایسه با گروه کنترل میزان روی پلاسما کاهش قابل توجهی داشته است (۱٦). لازم به ذکر است که، کاهش سطح روی (zn) پلاسما توسط VPA بوسیلهٔ محققین متعددی به اثبات رسیده است (۱۷,۱۸)، به علاوه با تحقیقات متعددی معلوم گشته است که عوارض جانبی درمان با والپروئیک اسید، آنورکسیا (Anorexia) پانکراتیت (Pancreatitis) Hyperammonaemia, و هپاتوتوکسیسیتی در نقصان روی نیز دیده شده است (۷,۸). در حیوانات، کاهش سطح روی در پلاسمای مادری که توسط محدودیت رژیمی ایجاد گشته است موجب دیس مورفوژنزهای بیشتری شده است که اعضاء سیستم‌های مختلف بدن و خصوصاً سیستم عصبی مرکزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در موش‌های صحرایی این نقصان روی موجب نقایص لولهٔ عصبی شامل هیدروسفالی، انسفالی واسپینابیفیدا گشته است (۱۹). از آن جایی که روی نقش مهمی در رشد و تکامل دارد و برای تکامل نرمال رویانی یک عنصر ضروری است و در بسیاری از واکنشهای بیوشیمیایی شرکت می‌کند و از اجزاء بیش از ۲۰۰ سیستم آنزیمی است (۲۰)، ما در این تحقیق به بررسی رابطهٔ بین والپروئیک اسید و غلظت روی پلاسما پرداختیم. بر اساس نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که کاهش سطح روی در پلاسمای نمونه‌های گروه تجربی در مقایسه با گروه کنترل می‌تواند مکانیسم اثر احتمالی والپروئیک اسید در ایجاد نقایص لوله عصبی را توجیه نماید. زیرا روی نقش مهمی در تکامل رویانی ایفا می‌نماید، که به تفصیل به آن اشاره شد.

و آیا می‌توان با تجویز روی مکمل از اثرات تراتوژنیک والپروئیک اسید ممانعت به عمل آورد؟ شاید با مطالعات دیگر بتوان به این سؤال پاسخ داد.

قدردانی و تشکر: بدینوسیله از سرکار خانم هوشیاری از گروه آناتومی و جناب آقایان احدی و سوهانکی از گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران سپاسگزاری می‌گردد.

References:

1. Davis. R, Peters.D.H and Mc Taris D.B. Valproic acid a reappraisal of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. Drug J 1994, 47: 332-372.

۲.اکبر زاده پاشا، حجت‌اله.راهنمای کلینیکی داروها.تهران: بهرام، ۱۳۷۲.

3. Jager-Roman.E, Deichl.A, Jacob.s. Fetal growth major malformations and minor anomalies in infants born to women receiving valproic acid. Pediatr J 1996, 108: 997-1004.

www.SID.ir

Archive of SID

4. Gary Cunningham F., Norman F, Gant Kenneth J. Williams obstetrics. 20th ed. Mcgraw-hill, 1997:1098-1099.
5. Robert.E: International notes valproic acid and spinabifida. Congenital Anomalies J 1998, 28: 71-80.
6. Garcia-morales-MA, Limon-luque-LM. Periconception use of folic acid in the prevention of neural tube defect.Gynecol Obstet Mex J 1996, 64: 418-421.
7. Hurd.RW, Wilder.BJ. Effects of valproic acid on zinc and selenium status. Neurosci Abstr J 1982, 8: 353.
8. Hurd.RW, Wilder.BJ. Zinc binding by valproic acid. Neurosci Abstr J 1981, 7: 813.
9. Nau.H, Zierr.R. A new model for embryotoxicity testing: teratogenicity and pharmacokinetics of valproic acid following constant rate administration in the mouse. Life Sci J 1981, 29: 2803-14.
10. Sever.LE, Emmanule.I. Is there a connection between maternal zinc deficiency and congenital malformations of the central nervous system.Teratology J 1973, 7: 117-118.
۱۱. منفرد، جان محمد.ارزیابی سمیت کلیوی جنتامایسین با اندازه‌گیری روی و مس در بزاق و سرم. پایان‌نامه دوره دکترای داروسازی، دانشکدهٔ داروسازی تهران، ۱۳۷۲.
12. Henkin R.I, Muller C.W and Wolf R.O. Estimation of zinc absorption of parotide salivary flameless atomic absorption specterophotometery in normal subjects and patients with idiopathic hypigeosia. Lab Clin J 1973, 86: 175.
13. Dalens B, Raynaud EJ, Gaulme J. Teratogenicity of valproic acid. Pediatr J 1973, 97: 332-33.
14. Gomes MR. Possible teratogenicity of valproic acid. Pediatr J 1981, 98: 508-509.
15. Clay SA, McVieR, Chen H. Possible teratogenic effect of valproic acid. Pediatr J 1981, 99: 828.
16. Daffron JC, Kasarkis EJ. Effect of valproic acid on zinc metabolism in the rat. Toxicol Lett J 1984, 23: 321-5.
17. Keen CL, Peters JM, and Hurly LS: The effect of valproic acid on 65zn distribution in the pregnant rat. Nutr J 1989,119 (4): 607-11.
18. Kusuya T, Hasegawa T. Effect of anti-epileptic drugs on serum zinc and cooper. Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol 1993, 31 (2): 61-5.
19. Hurley LS. Teratogenesis of trace element deficiency. Physiol Rev J 1981, 61: 249-295
20. Dale P lewis. Drug and enviroment factors associated with adverse pregnancy outcomes.Ann Pharmacoter J 1998, 32:1087-1095.
21. Okada A, Aoki Y, Kushima K, Kurihara H, Bialer M, Fujiwara M. Polycomb homologs are involved in teratogenicity of valproic acid in mice.Birth Defects Res A Clin Mol Teratol 2004, 70(11):870-9.
22- Kultima K, Nystrom AM, Scholz B, Gustafson AL, Dencker L, Stigson M. Valproic acid teratogenicity: a toxicogenomics approach.Environ Health Perspect, 2004, 112(12):1225-35.

www.SID.ir

Archive of SID

The Effect of a Single Teratogenic Dose of Valproic Acid On Plasma Zinc Concentration

Aboozarypour, M., M.sc.[1*], *Barbarestani, M., Ph.D.*[2], *Pasbakhsh, P., Ph.D.*[3], *Gharibzadeh, Sh., Ph.D*[4].

ABSTRACT

Introduction: Valproic acid (VPA) with good anticonvulsant activity has become accepted as one of the most important antiepileptic drugs. The potential teratogenicity of valproic acid on neural tube in infants born to mothers who have taken this drug has been described. The incidence of neural tube defect following exposure to VPA during the first weeks of pregnancy can increase to 1-2%. For this reason and for a relationship between zinc deficiency and neural tube defects and highest incidences of these abnormalities in areas of the world where human zinc deficiency exists we investigated the effect of VPA on plasma zinc concentration.

Materials & Methods: In this experimental study we selected 12 rats (Albino) randomizely in 2 groups. The rats were in equal environmental and nutritional states. In Control group normal saline 4ml/kg and in experimental group VPA 350mg/kg is injected intra abdominal. All the rats were sacrificed with cervical cutting and plasma prepared. Plasma zinc concentration was measured with flameless atomic absorption method. Quantitative data were presented as a Mean±SD were analyzed by t-test.

Results: Mean plasma zinc in the case group was 27.96±2.23, and in the control group was 42.2±0.579 (p=0.000).

Conclusion: These results indicate that injection of VPA to rats decrease plasma zinc levels, that may be one of the mechanisms in neural tube defect following exposure to VPA.

Key words: Valproic Acid, Neural Tube defect, Zinc, Plasma

1. Master of Anatomy, Kurdistan University of Medical Sciences, Pasdaran Street, Sanandaj, Corresponding Author.
2. Associated Professor of Anatomy, Tehran University of Medical Sciences.
3. Associated Professor of Anatomy, Tehran University of Medical sciences.
4. Assistant Professor of Physiology, Tehran University of Medical Sciences.

www.SID.ir