

## اثر متفورمین بر سطح سرمی ویتامین B12 و اسید فولیک در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲

دکتر علیرضا عبادی<sup>۱</sup>، دکتر سعید گل بیدی<sup>۲</sup>، محسن تقدسی<sup>۳</sup>، دکتر زریچهر وکیلی<sup>۴</sup>، بهاره ارباب<sup>۵</sup>، شکوه سربلوکی<sup>۶</sup> بتول زمانی<sup>۷</sup>

<sup>۱</sup> استادیار بخش داخلی دانشگاه علوم پزشکی کاشان <sup>۲</sup> استادیار گروه فیزیولوژی فارماکولوژی

<sup>۳</sup> نویسنده مسئول: مربی گروه داخلی- جراحی دانشگاه علوم پزشکی کاشان E-mail: taghadosi\_1345@yahoo.com

<sup>۴</sup> استادیار گروه پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان <sup>۵</sup> پزشک عمومی <sup>۶</sup> متخصص تغذیه <sup>۷</sup> استادیار داخلی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

### چکیده

**زمینه و هدف:** با توجه به شیوع بیماری دیابت و نقش متناقض درمان با متفورمین بر سطح سرمی ویتامین B12 و اسیدفولیک سرم و با توجه به اهمیت موضوع این مطالعه به منظور تعیین ارتباط سطح سرمی ویتامین B12 و اسید فولیک در بیماران مبتلا به دیابت تحت درمان با متفورمین در سال ۸۳-۱۳۸۲ در مرکز دیابت کاشان صورت گرفت.

**روش کار:** این تحقیق به روش Historical Cohort بر روی بیماران دیابتی که جهت کنترل و آموزش به صورت دوره ای به واحد کنترل دیابت کاشان، مراجعه میکردند انجام شد. اطلاعات لازم در مورد نحوه انجام تحقیق، اهداف و نتایج داده شده و از بین افراد داوطلب کلیه افرادی که تحت درمان با آنتی‌اسیدها، مکملهای ویتامین B12 و اسیدفولیک و داروهای شیمی درمانی و افراد الکلیک یا مبتلا به بیماریهای گوارشی و کبد بودند از مطالعه حذف شدند افراد باقیمانده به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول تحت درمان با متفورمین بودند. گروه دوم افرادی که با سایر داروهای ضد دیابت تحت درمان بودند. کلیه افراد حداقل به مدت ۶ ماه تحت درمان با رژیم مخصوص به خود بودند. و بعد از ۱۴ ساعت ناشتا بودن سطح ویتامین B12 و اسید فولیک در سرم بیماران اندازه گیری شد و نتایج حاصله با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با کمک تستهای Fisher exact test و X2 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته‌ها:** از ۱۷۲ بیمار ۱۴۵ نفر (۸۴/۳۱٪) زن و ۲۷ نفر مرد (۱۵/۶۹٪) بودند. میانگین سنی بیماران  $52/1 \pm 12/7$  سال بود. متوسط دوره بیماری  $5/42 \pm 9/1$  سال و متوسط شاخص توده بدن  $27/7 \pm 4/7$  کیلوگرم بر متر مربع بود. میزان اسیدفولیک در بیماران دریافت کننده متفورمین  $9/2 \pm 5/1$  نانوگرم در دسی‌لیتر و در بیماران بدون دریافت متفورمین  $8/7 \pm 4/6$  نانوگرم در دسی‌لیتر بود که تفاوت معنی داری نشان نداد. متوسط ویتامین B12 در بیماران تحت درمان با متفورمین  $528/6 \pm 342/54$  پیکوگرم در دسی‌لیتر بود و در بیماران بدون دریافت متفورمین  $516 \pm 32/16$  پیکوگرم در دسی‌لیتر بود که از نظر محاسبات آماری تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه نبود. بین سن بیماران مورد مطالعه و میزان اسید فولیک آنان همبستگی معنی‌داری مشاهده شد ( $p=0/01$ ). اما سن با میزان ویتامین B12 و اسید فولیک همبستگی معنی‌داری نشان نداد. همبستگی معنی‌داری بین سن، طول دوره بیماری، شاخص توده بدن با ویتامین B12 وجود نداشت. بین طول دوره بیماری و شاخص توده بدنی با اسید فولیک نیز ارتباط معنی‌داری یافت نشد.

**نتیجه‌گیری:** در این مطالعه ارتباطی بین مصرف متفورمین و کمبود ویتامین B12 ناشی از مداخله دارو با جذب گوارشی این عامل یافت نشد. تفاوت بودن نتایج این مطالعه با سایر مطالعات شاید ناشی از مصرف بیشتر و روتین مکملهای ویتامینی می باشد که توسط بیماران بدون تجویز پزشک مصرف میگردد. و همچنین اختلافات ژنتیکی و سن بیماران در این مطالعه و ترکیب شیمیایی نوع دارو مورد مصرف در ایران از دلایل احتمالی این تناقض می باشد.

**واژگان کلیدی:** متفورمین، ویتامین B12، اسید فولیک، دیابت نوع ۲

## مقدمه

دیابت یکی از معضلات پزشکی جوامع کنونی است. آمار نشان می‌دهد که بیش از ۱۵۰ میلیون نفر در دنیا از دیابت رنج می‌برند [۱]. برطبق بررسی‌های بعمل آمده در سال ۲۰۰۰ توسط فدراسیون بین‌المللی دیابت (IDF) تعداد مبتلایان به دیابت تا ۲۵ سال آینده به ۳۰۰ میلیون نفر می‌رسد [۲]. در کشور ما در مطالعه‌ای که توسط مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه تهران انجام شده شیوع دیابت رادر تهران ۷/۴٪ و در بوشهر ۱۳/۶٪ گزارش کرده اند. دیابت زیرمجموعه‌ای از بیماری‌های متابولیک است که فنوتیپ آن هایپرگلیسمی می‌باشد. چند نوع مشخص از دیابت وجود دارد که در واقع تداخلی از عوامل ژنتیکی، محیطی و تغییر در روش و سبک زندگی در ایجاد آنها دخالت دارد بسته به علت دیابت شیرین عوامل ایجادکننده هایپرگلیسمی شامل کاهش ترشح انسولین، کاهش مصرف گلوکز توسط سلولها و افزایش تولید گلوکز می‌باشد [۳]. بی‌نظمی متابولیک در ارتباط با دیابت منجر به تغییرات پاتوفیزیولوژیک ثانویه می‌گردد که ارگانهای مختلف را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۳].

در امریکا و سایر مناطق جهان از جمله در ایران، دیابت شیرین یک علت مهم در نارسایی کلیه، آمپوتا سیون غیر تروماتیک اندام تحتانی و نابینایی بالغین می‌باشد [۲]. با افزایش میزان بروز دیابت در سراسر دنیا، این بیماری بعنوان علت مهم مرگ و میر و ناخوشی در آینده مطرح می‌باشد. مهمترین علایم بالینی دیابت شامل پر شاشی، پر نوشی می‌باشد [۳]. روشهای متداول امروزی جهت کنترل و درمان مبتلایان، شامل استفاده از داروهای خوراکی و تزریق انسولین جهت کاهش قند خون به همراه ورزش و رژیم غذایی است. از اقدامات دیگر کنترل و پیشگیری از عوارض حاد و مزمن بیماری است [۵،۴]. در حال حاضر داروهای خوراکی متعددی با ترکیبات مختلف جهت این بیماران توصیه می‌شود. از جمله این داروها قرص متفورمین

است که تحقیقات مختلف تداخل آن را با سطح ویتامین B12 و اسید فولیک سرم گزارش کرده اند [۷،۶]. سایر عوارض این دارو شامل عوارض گوارشی در ۲۰ تا ۳۰ درصد بیماران و اسیدوز متابولیک می‌باشد [۸]. متفورمین حساسیت بافتی محیطی و کبدی به انسولین را افزایش می‌دهد. مطالعات بالینی نشان می‌دهد که درمان با متفورمین به طور مداوم باعث کاهش سطح گلوکز ناشتا به میزان ۶۰ تا ۷۰ میلی‌گرم در دسی لیتر و همچنین کاهش HbA1C به میزان ۱/۵ تا ۲ درصد در بیماران با کنترل ضعیف دیابت می‌شود. این کاهش به سن بیمار، طول مدت دیابت، نمایه توده بدن یا انسولین پلاسما در حالت ناشتا بستگی ندارد. این دارو به همراه سولفونیل اوره‌ها به عنوان داروهای خط اول در درمان دیابت به کار می‌رود [۵].

مطالعه انجام شده توسط ولف<sup>۲</sup> و همکاران نشان داد که پس از مصرف متفورمین و انسولین به مدت ۱۶ هفته سطح سرمی اسید فولیک ۷٪ و سطح سرمی ویتامین B12 ۱۴٪ کاهش داشت [۹]. مطالعه‌ای در یونان توسط فلیوسی<sup>۳</sup> [۱۰] و همکارانش از جهت غربالگری بیماران تحت درمان با متفورمین از لحاظ کم خونی مگالوبلاستیک انجام گرفت که نتایج آن بصورت کاهش حدود ۵٪ در سطح سرمی ویتامین B12 همراه افزایش غیرطبیعی در شاخص آنتی‌بادی ضد سلولهای پاریتال گزارش شد. [۱۱]. دلوا<sup>۴</sup> گزارشی از کمبود ویتامین B12 در مرد ۵۸ ساله که در یک دوره ۲۰ ساله با مصرف این دارو دچار اختلال جذب ویتامین B12 شده بود داد [۱۱]. در مطالعه دیگر توسط آندرس<sup>۵</sup> و همکارانش در دانشگاه استراسبورگ فرانسه در ۱۷٪ موارد دریافت طولانی مدت متفورمین منجر به کاهش سطح ویتامین B12 و علایم کلینیکی نوروپاتی و دمانس گردید [۱۲]. گارسیا<sup>۶</sup> و همکاران مردی ۶۳ ساله‌ای را که پس از ۵ سال دریافت متفورمین دچار کمبود شدید ویتامین B12 شده بود را

<sup>2</sup> Wulffele

<sup>3</sup> Fillioussi

<sup>4</sup> Delva

<sup>5</sup> Andres

<sup>6</sup> Garcia

<sup>1</sup> International Diabetes Federation

معرفی کردند. جایگزین کردن متفورمین با سولفونیل اوره ها و دادن هزار میلی گرم سیانو کوبالامین به مدت ۲ ماه کمبود وی را جبران کرد [۱۳].

با توجه به شیوع بیماری دیابت و میزان مرگ و میر و ناخوشی‌هایی که ایجاد می‌کند [۱۴] و با توجه به اینکه مصرف متفورمین به عنوان داروی مناسب جهت کنترل قند خون در سطح سرمی ایده‌آل در بیماران دیابتی بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۵] و با توجه به عوارض دارویی بویژه کاهش سطح سرمی ویتامین B12 و اسید فولیک به دنبال مصرف متفورمین، مطالعه فوق جهت تعیین اثر متفورمین بر سطح ویتامین B12 و اسید فولیک سرم مبتلایان به دیابت مراجعه کننده به مرکز دیابت کاشان در سال ۱۳۸۳ انجام شد.

## روش کار

این بررسی از نوع Historical cohort است که بر روی بیمارانی که تشخیص دیابت در آنها بر اساس معیارهای تشخیصی اثبات شده و مراجعه کننده به مرکز کنترل دیابت کاشان در سال ۸۳-۱۳۸۲ بودند انجام گرفت. جهت بررسی عوارض داروها این مطالعه بر روی بیماران دیابتی ثابت شده جهت بررسی عوارض متفورمین. از کلیه بیماران شرح حال گرفته و معاینه بالینی انجام شد، هر فرد مراجعه کننده به کلینیک که داوطلب شرکت در مطالعه بوده و تحت درمان با متفورمین و یا متفورمین با انسولین قرار داشت و دچار بیماری‌های طبی یا عضوی موثر بر جذب ویتامین B12 مصرف کننده الکل، داروهای آنتی اسید و داروهای شیمی درمانی و سایر درمانهای مداخله گر بر سطح ویتامین B12 و اسید فولیک نبوده و داروهای مداخله گر با این مواد را نیز دریافت نمی‌کرد، جهت مطالعه انتخاب شدند. این افراد به دو گروه تقسیم شدند گروه اول فقط تحت درمان با قرص متفورمین بودند. گروه دوم شامل بقیه بیمارانی بودند که سایر داروها را مصرف میکردند. برای هر کدام از افراد شرکت کننده فرم اطلاعات با متغیرهایی که شامل: مصرف متفورمین، سطح سرمی ویتامین B12 سطح سرمی اسید فولیک،

سن، جنس، سابقه مصرف دارو، کم‌خونی، مصرف مکمل های ویتامینی، سابقه بیماری کبدی، سابقه بیماری گوارشی، سرطان، مصرف سیگار، مصرف الکل، شیمی درمانی بودند در نظر گرفته شد.

افرادی که تحت درمان با متفورمین بودند در گروه مورد و سایر بیماران که داروهای دیگر ضد دیابت شامل انسولین و گلی بن کلامید با یا بدون متفورمین مصرف میکردند در گروه های شاهد قرار گرفتند. افرادی که در هر دو گروه دچار بیماری‌هایی که بر روی سطح سرمی اسید فولیک و ویتامین B12 موثر بود شامل: بیماری های گوارشی و کبد و سوء جذب ویتامین B12 و مصرف الکل، مصرف داروهای ضد اسید از مطالعه حذف شدند ولی مصرف روتین مکملهای ویتامینی که توسط بیماران بدون تجویز پزشک مصرف گردید حذف نشد. پس از توضیح برای بیماران و جلب موافقت آنها مبنی بر رعایت موارد تاثیر گذار بر سطح اسید فولیک و ویتامین B12 افرادی که حداقل به مدت ۶ ماه تحت درمان با رژیم دارویی مخصوص به خود بودند پس از ۱۴ ساعت ناشتا بودن به یک آزمایشگاه معرفی شده و توسط یک نفر تکنسین خونگیری انجام شده و با استفاده از روش رادیوایمونواسی با استفاده از دستگاه گاما کانتر گاما نریز در آنها اندازه گیری شد. افرادی که سطح ویتامین B12 آنها کمتر از ۱۶۰ pg/ml و میزان اسید فولیک کمتر از ۳ نانو گرم در میلی لیتر داشتند غیر طبیعی در نظر گرفته شدند سپس میانگین و انحراف معیار موارد فوق در دو گروه تعیین شد و نتایج حاصله با استفاده از نرم افزار SPSS و با کمک تستهای  $X^2$  و Fisher exact و Manvitni U test مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

## یافته‌ها

از ۱۷۲ بیمار دیابتی، ۲۷ نفر (۱۵/۶۹٪) مرد و ۱۴۵ نفر (۸۴/۳۱٪) زن بودند. متوسط سن بیماران  $52/1 \pm 12/7$  سال، متوسط دوره بیماری  $5/42 \pm 9/1$  سال و متوسط شاخص توده بدن  $27/7 \pm 4/7$  کیلوگرم بر متر مربع بود (جدول ۱). میزان اسید فولیک در بیماران دریافت کننده

انسولین داشتند در مقایسه با گروه دیگر که داروی انسولین رابه تنها یی مصرف کرده بودند، پس از ۱۶ هفته سطح سرمی اسیدفولیک به میزان ۷٪ کاهش داشت [۹] و سطح سرمی ویتامین B12، ۱۴٪ کاهش داشت. در مطالعه دیگری که در یونان توسط فیلوسی و همکارانش [۱۰] بر غربالگری در بیماران دیابتی تحت درمان با بی گوانیدها از جمله متفورمین از لحاظ کم‌خونی مگالوبلاستیک انجام شد نتایج نشان داد که کاهش حدود ۵٪ در سطح سرمی ویتامین B12 به همراه افزایش غیرطبیعی در شاخص APCA<sup>۱</sup> (آنتی‌بادی ضد سلولهای پاریتال) را نشان داد.

در مطالعه دیگری که در بیمارستان دلوا انجام شد [۱۱] گزارشی از یک مورد کمبود ویتامین B12 در مرد ۵۸ ساله‌ای ارائه شد که بصورت پیش‌رونده دچار از دست دادن حافظه و لتارژی در یک دوره ۲۰ ساله شده که هیچ علتی برای آن یافت نشد. آنها متذکر شدند که با افزایش سن بعلت اختلالات ایجاد شده در دستگاه گوارش و نیز اختلال جذب ویتامین B12 کمبود آن در این بیمار رخ داده بود.

در مطالعه دیگر آندرس و همکارانش [۱۲] تحقیقی روی ۶۰ بیمار بالای ۶۵ سال که کمبود کوبالامین در رابطه با سوء‌جذب غذایی کوبالامین داشتند انجام دادند. نتایج حاصله به صورت بروز علایم کلینیکی شامل نوروپاتی و دمانس، افت هموگلوبین و غیره و کاهش سطح Vit B12 بود که تمام موارد فوق ناشی از سوء جذب غذایی کوبالامین بود که در ۱۷٪ دریافت طولانی متفورمین و آنتی‌اسیدها در ۵۹٪ آتروفی معده و ۸٪ مصرف الکل بعنوان عوامل دخیل شناخته شدند. داروها بعلت تداخل در جذب ویتامین B12 باعث کاهش آن می‌گردد که می‌تواند بصورت کاهش در فاکتور داخلی، نقص ترشح اسید معده و یا آنتی‌بادی‌های ایجاد شده بر علیه سلولهای جداری باشد.

در مطالعه حاضر نتایج نشان داد که مقادیر اسیدفولیک سرم در بیماران دریافت کننده رژیمهای مختلف دارویی اختلاف معنی‌داری نشان نداد. همچنین مقادیر

متفورمین ۹/۲±۵/۱ نانوگرم در دسی‌لیتر و در بیماران بدون دریافت متفورمین ۸/۷±۴/۶ نانوگرم در دسی‌لیتر بود که تفاوت معنی‌داری نشان نداد. متوسط ویتامین B12 در بیماران تحت درمان با متفورمین ۵۴۳/۱±۳۴۲/۵۴ پیکوگرم در دسی‌لیتر بود و در بیماران بدون دریافت متفورمین ۵۱۶±۳۳/۱۶ پیکوگرم در دسی‌لیتر بود که از نظر محاسبات آماری تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه نبود. بین سن بیماران مورد مطالعه و میزان اسیدفولیک آنان همبستگی معنی‌داری مشاهده شد (p=۰/۰۱۰). اما سن با میزان ویتامین B12 همبستگی معنی‌داری نشان نداد همبستگی معنی‌داری بین جنس، طول دوره بیماری و شاخص توده بدن با ویتامین B12 وجود نداشت. بین طول دوره بیماری (p=۰/۵۶۷) و شاخص توده بدن (p=۰/۸۰۹) با اسید فولیک نیز ارتباط معنی‌داری یافت نشد (جدول ۲).

درمانی		
متغیرها	گروه مورد	گروه شاهد
سن بر حسب سال	۵۲/۱±۱۲/۷	۴۹±۱۳/۱
جنس	۲۳	۴
دوره بیماری بر حسب سال	۵/۴۲±۹/۱	۵/۷±۲/۳
شاخص توده بدن (kg/m <sup>2</sup> )	۲۷/۷±۴/۷	۲۶/۱±۲/۳

جدول ۲. ضریب همبستگی اسید فولیک و B12 سرم با سن و طول و دوره بیماری و شاخص توده بدن در بیماران مورد مطالعه

ضریب همبستگی	فولیک اسید بر حسب پیکو گرم بر دسی لیتر	ویتامین ب 12
سن	r=۰/۱۹۵، p=۰/۰۱۰	r=۰/۱۲۸، p=۰/۰۹۵
طول دوره بیماری	r=۰/۰۴۴، p=۰/۵۶۷	r=۰/۰۶۶، p=۰/۳۸۹
شاخص توده بدنی	r=۰/۰۱۹، p=۰/۸۰۹	r=۰/۰۴۷، p=۰/۵۳۹

### بحث

در این تحقیق سطح سرمی ویتامین B12 و اسیدفولیک در بیماران دیابتی تحت درمان با متفورمین کاهش نشان نداد. بر طبق مطالعات انجام شده توسط ولفل و همکارانش، بیمارانی که مصرف متفورمین به علاوه

<sup>1</sup> Anti Parietal Cell Antibody

البته باید این نکته نیز تذکر داده شود که در مطالعات قبلی که تاکید بر کاهش سطح این دو ویتامین گردیده بود میانگین سن افراد مورد مطالعه از افراد بررسی شده در این تحقیق بیشتر بوده است (در مطالعات دیگر میانگین سن افراد مورد مطالعه ۷۵ سال بوده اما در این تحقیق میانگین سن افراد ۵۲ سال بوده است) لذا عامل سن و بیماریهای مربوط به افراد مسن میتواند یک عامل تاثیر گذار باشد که لزوم انجام تحقیق بر روی افراد دیابتیک مسن که متفورمین مصرف می کنند را نشان میدهد. در این مطالعه ارتباطی بین مصرف متفورمین و کمبود ویتامین B12 ناشی از مداخله دارو با جذب گوارشی این عامل یافت نشد.

ویتامین B12 در بیماران دریافت کننده رژیمهای مختلف دارویی اختلاف معنی داری نشان نداد (p=۰/۶۳۹) عدم تطابق یافته های تحقیق انجام شده با سایر تحقیقات احتمالا به علت استفاده بیشتر مکملهای دارویی اسید فولیک و ویتامین B12 در ایران و از جمله در شهرستان کاشان می باشد که حتی بدون تجویز پزشک بنابر باور عمومی بیماران در اثربخشی مکملها در بدن استفاده می شود. علت دیگر عدم تطابق یافته های تحقیق با سایر تحقیقات عدم مصرف صحیح داروی متفورمین همچنین تفاوت ترکیب دارویی متفورمین استفاده شده در کشور ما و متفاوت بودن آن از استاندارد جهانی همچنین تفاوت های ژنتیکی عامل مهم دیگری است که مطرح می گردد.

## References

- 1- Alpert JE, Fava M. Nutrition and depressions, the role of folate. *Nutrition Rev.* 1997; 5(5):145-149
- 2- Harris MI, Flegal KM, Cowi CC, Eberhardt MS, Colstein DE, little RR, et al. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in U.S adult. the third national Health is Nutrition examined survey 1988-1994 diabetic care. 1988; 21: 518-26
- 3- Klein F. Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes. *Diabetic care.* 1995; 18: 258-68
- 4- Alpert JE, Mischoulon D, Nierengery AA, Fava M. Nutrition and depressions focus on folate. *Nutrition.* 2000; 16: 544-581.
- 5- King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025. Prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes care.* 1998; 21:1414-1431
- 6- Joosten, Etienne. Metabolic evidence that deficiencies of vit B12, folate and vitamin B6 occur commonly in elderly people. *Nutrition.* 2002; 22: 344-361.
- 7- Elia M. Oral or parenteral therapy for B12 deficiency. *The lancet.* 1998; 352(28): 1721-27.
- 8- Lederle A. Oral cobalamin for pernicious anemia: Back from the verge of extinction. *JAGS, vol.* 46, Sept 1998: 1125-27.
- 9- Wullfele MG, Kooy A, Lehert P, Bets D, Ogterop JC, Borger VA, et al. J Intern Med. 2 Metabolic evidence that deficiencies of vit B12, folate and vitamin B6 occur. 2003; 254(5): 455-63.
- 10- Filloussi K, Bonovas S, Katsaros T. Megaloblastic anemia. *Aust Fam Physician.* 2003; 32(5): 383.
- 11- Delva M, Dianne B. Vitamin B12 replacement or not. *Canadian family physician.* 1997; 43: 917-22.
- 12- Andres M, Noel E, Kaltenbach G, Perrin AE, Vinzio S, Goichot Schlienger JL, et al. *Rev Med Intern.* Effect of B12 deficiency. 2003; 24(4):p218-23
- 13- Garcia A. Is low dose oral cobalamin enough to normalize cobalamin function in older people? *J Am Geriatr Soc.* 2002; 50(8): 1401-4.
- 14- Andreoli TE, carpenter CJ, Griggs C, loscalzo J. Cecil essentials of medicine, 6<sup>th</sup> edition 2004: p451-454.
- 15- Braunwald E, Fauci AS, dennis L, Harrison TR, Stephen I, Hauser SL, et al. *Harrison's principles of internal medicine* 15<sup>th</sup> edition. 2001:p601-605.