

تیترانتی بادی علیه هرپس ویروس انسانی تیپ-۶ در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس در استان مرکزی

محسن خاکی^۱، علی قضاوی^۲، دکتر کیوان قسامی^۳، دکتر محمد رفیعی^۴، محمد علی پایانی^۵، دکتر قاسم مسیبه^{۶*}

۱- مربی، کارشناس ارشد ویروس شناسی، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۲- مربی، کارشناس ارشد ایمونولوژی، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۳- استادیار، متخصص نورولوژی، گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۴- استادیار، دکترا آمارحیاتی، گروه بهداشت و پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۵- کارشناس آزمایشگاه، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۶- دانشیار، دکترا ایمونولوژی، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی-مولکولی اراک، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

تاریخ دریافت ۸۸/۲/۸، تاریخ پذیرش ۸۸/۳/۲۷

چکیده

مقدمه: مولتیپل اسکلروزیس از بیماری‌های خود ایمنی سیستم اعصاب مرکزی است. علل ایجاد این بیماری ناشناخته است ولی عوامل محیطی از جمله عفونت‌های ویروسی در ایجاد آن نقش دارند. در این مطالعه بیماران مبتلا مولتیپل اسکلروزیس در استان مرکزی از نظر میزان آنتی بادی علیه هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ مورد بررسی قرار گرفتند. **روش کار:** در مطالعه مورد شاهدهی حاضر ۳۱ بیمار مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس که در مراحل اولیه تشخیص بودند و هیچ گونه برنامه درمانی خاصی روی آنها انجام نشده بود و ۶۰ فرد سالم با شاخصهای دموگرافیک نظیر سن، جنس و محل سکونت همسان با گروه بیمار، از نظر آنتی بادی G و M ضد هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ با روش الیزا و ایمونوفلورسانس مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌های حاصله با استفاده از رگرسیون لجستیک و نسبت شانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج: ۷۴/۲ درصد از گروه مورد و ۳۴/۲ درصد گروه شاهد از نظر آنتی بادی M ضد هرپس ویروس انسانی تیپ-۶ مثبت بودند و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0/001$). احتمال وقوع مولتیپل اسکلروزیس در موارد مثبت حضور آنتی بادی M ضد هرپس ویروس انسانی تیپ-۶ بیش از ۵ برابر افراد فاقد این آنتی بادی بود. هم‌چنین از نظر میانگین تیترا آنتی بادی G علیه این ویروس در بین دو گروه اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ($p=0/019$).

نتیجه گیری: عفونت حاد هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ می‌تواند عاملی برای ایجاد مولتیپل اسکلروزیس باشد.

واژگان کلیدی: مولتیپل اسکلروزیس، ویروس هرپس ویروس انسانی تیپ ۶، آنتی بادی

***نویسنده مسئول:** اراک، سردشت، دانشگاه علوم پزشکی اراک، گروه میکروب شناسی و ایمنی شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی -

مولکولی اراک، کد پستی: ۳۸۴۸۱۷۶۹۴۱

E-mail: gmosayebi@yahoo.com

مقدمه

بیماری مولتیپل اسکروزیس از دسته بیماری‌های خود ایمن است که باعث گرفتاری سیستم عصبی مرکزی می‌شود. بدلیل ایجاد مخاطرات مختلف از جمله ناتوانی‌ها و مرگ و میر به خصوص در جوانان از بیماری‌های حائز اهمیت در جامعه انسانی است. براساس آمار، روند این بیماری مزایمی بوده و لذا پایش آن از نظر اتیولوژی می‌تواند نقطه عطفی در کنترل بیماری باشد. اتیولوژی بیماری مشخص نیست ولی فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در مستعد کردن افراد به بیماری نقش دارند (۱، ۲).

نقش عفونت‌های ویروسی در ایجاد بیماری مذکور در شرایط اپیدمیولوژیک مختلف بررسی شده و در هر منطقه، ارتباط تعدادی از این عفونت‌ها با بیماری ابراز شده است (۳-۵). پاره‌ای مطالعات نیز این ارتباط را به خصوص از نظر نوع ویروس‌های عامل عفونت، شدت و کمیت پاسخ ایمنی مورد ارزیابی قرار داده اند (۶، ۷). برخی گزارشات نشان می‌دهد که بین ایجاد این بیماری و هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ ارتباط وجود دارد (۳، ۸). البته مطالعاتی نیز نشان از عدم وجود چنین ارتباطی دارند (۹، ۱۰).

استان مرکزی از کانون‌های مطرح مولتیپل اسکروزیس در کشور است. با عنایت به روند مزایمی بیماری در این منطقه، مطالعه حاضر در راستای ارزیابی عفونت‌های ویروسی مرتبط با بیماری در بیماران تازه تشخیص داده شده این استان طراحی و اجرا شد. انتخاب این ویروس در مطالعه حاضر به دو دلیل صورت گرفت: ۱- تعلق این ویروس به گروه ویروس‌هایی که در فرآیند پاتوبیولوژی عفونت آن، اختفاء (Latency) و نواحیایی (Reactivation) رخ می‌دهد. این فرآیند ممکن است از عوامل زمینه ساز مهم در ایجاد آشفستگی‌های نورولوژیک و ایجاد بیماری باشد (۱۱، ۱۲) ۲- احتمال بروز اینگونه بیماری‌های تنفسی و افزایش میزان بروز آنها هم چنین بالا رفتن تیترا آنتی بادی به عنوان یکی از مکانیسم‌های دخیل در ایجاد بیماری، با توجه به شرایط جغرافیایی و اپیدمیولوژیک

حوزه تحت بررسی هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه بیماران مبتلا به مولتیپل اسکروزیس و افراد سالم از نظر میزان آنتی بادی علیه هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ می‌باشد. امید که با شناخت گروهی از عوامل اتیولوژیک دخیل در ایجاد بیماری بتوان گامی موثر در کنترل بیماری در این حوزه برداشته شود.

روش کار

این مطالعه یک پژوهش مورد-شاهدی است که بر روی ۳۱ بیمار مبتلا به مولتیپل اسکروزیس در استان مرکزی (گروه مورد) و ۶۰ فرد سالم با شرایط سنی، جنسی و جغرافیایی مشابه با گروه بیمار (گروه شاهد) مراجعه کننده به بیمارستان ولی عصر شهر اراک انجام شد. گروه مورد افرادی بودند که براساس معیارهای تشخیصی و نظر پزشک متخصص به مولتیپل اسکروزیس مبتلا بودند و هیچ‌گونه درمانی روی آنها انجام نشده بود (بیماران تازه مبتلا شده). گروه شاهد شامل ۶۰ نفر از افراد غیر مبتلا به مولتیپل اسکروزیس و سایر عفونت‌های ویروسی و خود ایمن با شرایط اپیدمیولوژیک همسان بودند. افرادی که در یک سال گذشته داروهای ایمنوساپرسیو دریافت نموده بودند نیز از مطالعه خارج شدند.

پس از تایید شورای اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و تکمیل فرم رضایت نامه، از بیماران ۵ سی سی خون اخذ شده و سرم مربوطه جهت ارزیابی میزان آنتی بادی‌های G و M علیه هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ جدا شد.

نمونه سرم‌های گروه مورد و شاهد تا زمان اتمام نمونه‌گیری، در شرایط مناسب به صورت منجمد ذخیره شد. جهت اندازه‌گیری میزان آنتی بادی M و G به ترتیب از روش ایمنوفلورسانس و الیزا استفاده شد. هم چنین کیت بیوترین (Biotrin) کشور ایرلند جهت ارزیابی بکار گرفته شد. حساسیت و ویژگی این روش جهت سنجش آنتی‌بادی‌های مربوطه بیش از ۹۵ درصد می‌باشد. در موارد

میانگین تیتراآنتی بادی G در گروه مورد برابر $1/46 \pm 0/7$ و در گروه شاهد برابر $1/1 \pm 0/65$ واحد بر میلی‌لیتر گزارش شد و بین گروه مورد و شاهد اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ($p=0/019$). به رغم این که احتمال وقوع بیماری مولتیپل اسکلروزیس در افراد واجد آنتی بادی G ضد هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ بیش از ۱/۷ برابر افراد فاقد آنتی بادی مذکور بود ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود.

بحث

در مطالعه حاضر در مورد سطح آنتی بادی M علیه هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ بین دو گروه بیمار و شاهد اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ($p < 0/001$). همچنین براساس آزمون رگرسیون لجستیک، احتمال وقوع مولتیپل اسکلروزیس در عفونت هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ حداقل ۵ برابر افزایش می‌یابد. به عبارت دیگر عفونت حاد ویروس مذکور بروز بیماری مولتیپل اسکلروزیس را در منطقه مورد مطالعه افزایش داده است. همچنین از نظر میانگین تیتراآنتی بادی G علیه هرپس ویروس انسانی تیپ ۶، بین گروه مورد و شاهد اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد.

نتایج با داده‌های حاصل از اغلب تحقیقات انجام شده مطابقت دارد. سولدان و همکاران اظهار داشته‌اند که حضور آنتی بادی M علیه این ویروس، با خطر عود عوارض مولتیپل اسکلروزیس همراه است. در این مطالعه، میزان آنتی بادی G در دو گروه تحت مطالعه تفاوت نداشت. این محققین هم‌چنین نشان دادند که ۳۰ درصد از بیماران با عود مولتیپل اسکلروزیس با روش واکنش زنجیره پلی‌مرز (Polymerase Chain Reaction-PCR) دارای ژن اختصاصی هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ بودند. تلفیق حضور DNA ویروس و آنتی بادی M ضد ویروس گواه ارتباط قوی‌تر عفونت این ویروس با ایجاد مولتیپل

مثبت آنتی بادی M، شدت (Intensity) واکنش آنتی ژن-آنتی بادی با استفاده از مشاهده کمپلکس رنگی در زیر میکروسکوپ فلورسانس مورد ارزیابی قرار گرفت.

به منظور مقایسه دو گروه و تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون‌های تی، مجذور-کای و آزمون غیر پارامتری Uمن ویتنی بر حسب نیاز استفاده شد. جهت ارزیابی احتمال وقوع بیماری در ارتباط با عفونت ویروسی، از آزمون رگرسیون لجستیک و نسبت شاناس (Odds-Ratio) استفاده گردید. p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان حد معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

از بین ۳۱ بیمار تحت بررسی ۲۶ مورد (۸۳/۸ درصد) زن و ۵ نفر (۱۶/۲ درصد) مرد بودند. از نظر شاخص‌های دموگرافیک نیز تلاش شد تا انطباق بین گروه مورد و شاهد برقرار شود و با توجه به انتخاب افراد گروه شاهد از همان منطقه محل اسکان بیماران و حجم نمونه دو برابر در گروه شاهد نسبت به گروه بیمار، این همخوانی در مورد سایر معیارها نیز رعایت شد.

بررسی نمونه‌ها نشان داد که ۷۴/۲ درصد از گروه مورد و ۳۴/۲ درصد گروه شاهد از نظر آنتی بادی M ضد هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ مثبت بودند که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0/001$). نتایج بررسی شدت واکنش آنتی ژن آنتی بادی در موارد مثبت دردو گروه نشان داد که ۲۵/۸ درصد گروه مورد و ۱۹/۵ درصد گروه شاهد دارای شدت مثبت یک، ۳۲/۲۵ درصد گروه مورد و ۱۴/۶ درصد گروه شاهد دارای شدت مثبت دو و ۱۶/۱ درصد از گروه مورد دارای شدت مثبت سه بودند. در گروه شاهد نمونه‌ای دارای شدت مثبت سه نبود. آزمون رگرسیون لجستیک احتمال وقوع مولتیپل اسکلروزیس با موارد مثبت حضور آنتی بادی M ضد هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ را بیش از ۵ برابر افراد فاقد این آنتی بادی برآورد کرد.

می‌تواند به دلیل تفاوت در شرایط جغرافیایی و نوع بیماران از نظر طول مدت بیماری باشد.

نکته حائز اهمیت در این مطالعه انتخاب گروه خاصی از بیماران بود که براساس تشخیص افتراقی متخصص نورولوژی، مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس تشخیص داده شده و هیچ‌گونه مداخله درمانی روی آنها انجام نشده بود. براین اساس در این مقطع از بیماری پروفایل ایمنولوژیک، از جمله تیترا آنتی بادی علیه عفونت‌های ویروسی، بواسطه عدم اجرای برنامه‌های درمانی، تغییر نکرده و می‌توان حضور این آنتی‌بادی‌ها را به عنوان شاخص ارزشمند در ارزیابی مواجهه افراد با این عفونت مورد ارزیابی قرار داد.

نتیجه گیری

نقش عفونت هرپس ویروس انسانی تیپ-۶ به عنوان یکی از ریسک فاکتورهای ایجاد مولتیپل اسکلروزیس در مورد بیماران استان مرکزی حائز اهمیت فراوان می‌باشد و حمله حاد این عفونت در گروه تحت مطالعه می‌تواند عاملی برای ایجاد مولتیپل اسکلروزیس باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی شماره ۲۳۳ است طراحی و انجام این پروژه در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اراک صورت گرفته است. بدینوسیله نویسندگان مقاله از زحمات اعضاء محترم شورای پژوهشی دانشکده پزشکی و دانشگاه علوم پزشکی اراک، معاونت محترم آموزش و تحقیقات و مدیریت محترم پژوهش و کارشناسان محترم آن حوزه قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. Steiner I, Nisipianu P, Wirguin I. Infection and the etiology and pathogenesis of multiple sclerosis. *Current Neurology and Neuroscience Reports* 2001; 1(3):271-6.

اسکلروزیس است (۱۳). در مطالعه برتی و همکاران نشان داده شد که تشدید علائم در بیماری مولتیپل اسکلروزیس، همخوانی قابل توجهی با حضور DNA ویروس مذکور در خون بیماران دارد (۱۴). این نتیجه‌گیری در مطالعه اخیانی و همکاران نیز اعلان شده است (۱۵). مطالعه آنها به بررسی سروتایپ ویروس براساس سنجش DNA اختصاصی، توجه خاص شده و این گونه تفسیر شده است که نواحی خاصی HHV-6 تیپ A در بیماران مولتیپل اسکلروزیس، ممکن است منجر به آزاد شدن ویروس مذکور در سرم و ادرار شود و آزمون واکنش زنجیره پلی مرز در این بیماران، از حساسیت و ویژگی بالایی برای تشخیص بیماری برخوردار است. از طرفی در پژوهشی دیگر نشان داده شد که این روش به دلیل حساسیت بالا به تنهایی نمایانگر ارتباط این ویروس با ایجاد بیماری نمی‌باشد (۱۶).

در کنار مطالعات موافق که نقش عفونت حاد هرپس ویروس انسانی تیپ ۶ را در همراهی با بروز مولتیپل اسکلروزیس تأیید می‌نمایند، مطالعاتی نیز مغایر با نتایج این مطالعه مطرح می‌باشد (۹، ۱۰). بر اساس بررسی انبوم و همکاران در سال ۱۹۹۹، در اغلب بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس، عدم حضور آنتی بادی M و بالعکس و افزایش میزان آنتی بادی G علیه این ویروس مشاهده شده است. همچنین بین گروه بیمار و کنترل از نظر پاسخ‌های لنفوپرولیفراتیو اختلاف مشاهده نشده است (۱۷). محققین این پژوهش، نقش این ویروس را در ارتباط با مولتیپل اسکلروزیس تأیید نکرده‌اند ولی احتمال داده‌اند که این عفونت می‌تواند یک عامل زیر ساختی و محرک در ایجاد بیماری باشد و بهره‌گیری از آزمون‌های مکمل نظیر واکنش زنجیره پلی مرز را جهت ارزیابی حضور عفونت توصیه نمودند. در تعداد محدودی از مطالعات تناقضاتی بین داده‌های مطالعات با بررسی‌های موافق قبلی دیده می‌شود ولی تقریباً در اغلب این بررسی‌های مخالف، بازنگری متدولوژی و لزوم انجام مطالعات وسیعتر پیشنهاد شده است (۵، ۱۶، ۱۸). علت مغایرت نتایج در مطالعات مختلف

2. Namaka M, Turcotte D, Leong C, Grossberndt A, Klassen D. Multiple sclerosis: etiology and treatment strategies. *Consult Pharm* 2008; 23(11):886-96.
3. Yao K, Honarmand S, Espinosa A, Akhyani N, Glaser C, Jacobson S. Detection of human herpesvirus-6 in cerebrospinal fluid of patients with encephalitis. *Annals of Neurology* 2009; 65(3):257-67.
4. Gutierrez J, Koppel B, Kleiman A, Akfirat G. Multiple sclerosis and Epstein-Barr virus: a growing association. *Revista Medica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social* 2008; 46(6): 639-42.
5. Podriguez-Violante M, Ordonez G, Bermudez JR, Sotelo J, Corona T. Association of a history of varicella virus infection with multiple sclerosis. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 2009;111(1):54-6.
6. Olson JK, Ercolini AM, Miller SD. A virus-induced molecular mimicry model of multiple sclerosis. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 2005;296:39-53.
7. Nielsen TR, Pedersen M, Rostgaard K, Frisch M, Hjalgrim H. Correlations between Epstein-Barr virus antibody levels and risk factors for multiple sclerosis in healthy individuals. *Mult Scler* 2007; 13(3):420-3.
8. Virtanen JO, Farkkila M, Multanen J, Uotila L, Jaaskelainen AJ, Vaheri A, et al. Evidence for human herpesvirus 6 variant antibodies in multiple sclerosis: diagnostic and therapeutic implications. *J of Neurovirology* 2007; 13(4):347-52.
9. de Villiers JN P, Treurnicht Florette K, Warnich L, Carr J, Van Rensburg SJ, Kotze Maritha J. Analysis of viral and genetic factors in South African patients with multiple sclerosis. *Metabolic Brain Disease* 2006; 21(2-3):163-9.
10. Alvarez-Lafuente R, de las Heras V, Garcia-Montojo M, Bartolome M, Arroyo R. Human herpesvirus-6 and multiple sclerosis: relapsing-remitting versus secondary progressive. *Multi Scler* 2007; 13(5):578-83.
11. Yao K, Gagnon S, Akhyani N, Williams E, Fotheringham J, Frohman E, et al. Reactivation of human herpesvirus-6 in natalizumab treated multiple sclerosis patients. *PLOS ONE* 2008; 3(4):e2028.
12. Rotola A, Cassai E, Tola MR, Granieri E, Di Luca D. Human herpesvirus 6 is latent in peripheral blood of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *J of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 1999; 67(4):529-31.
13. Soldan SS, Fogdell-Hahn A, Brennan MB, Mittleman BB, Ballerini C, Massacesi L, et al. Elevated serum and cerebrospinal fluid levels of soluble human herpesvirus type 6 cellular receptor, membrane cofactor protein in patients with multiple sclerosis. *Annals of Neurology* 2001; 50(4): 486-93.
14. Berti R, Brennan MB, Soldan SS, Ohayon JM, Casareto L, McFarland HF, et al. Increased detection of serum HHV-6 DNA sequences during Multiple Sclerosis (MS) exacerbations and correlation with parameters of MS disease progression. *J of Neuro Virology* 2002; 8(3):250-6.
15. Akhyani N, Berti R, Brennan MB, Soldan SS, Eaton JM, McFarland HF, et al. Tissue distribution and variant characterization of human herpesvirus (HHV)-6: increased prevalence of HHV-6A in patients with multiple sclerosis. *J of Infectious Diseases* 2000; 182(5): 1321-5.
16. Clark D. Human herpesvirus type 6 and multiple sclerosis. *Herpes* 2004;11 Suppl 2: 112A-9A.
17. Enbom M, Wang FZ, Fredrikson S, Martin C, Dahl H, Linde A. Similar humoral and cellular immunological reactivities to human herpesvirus 6 in patients with multiple sclerosis and controls. *Clinical and Diagnostic laboratory Immunology* 1999; 6(4): 545-9.
18. Marnett G, Astone V, Arru G, Marconi S, Lovato L, Serra C, et al. Brains and peripheral blood mononuclear cells of multiple sclerosis (MS) patients hyperexpress MS-associated retrovirus/HERV-W endogenous retrovirus but not Human herpesvirus 6. *J of General Virology* 2007; 88(Pt 1): 264-74.

Anti-human herpes virus-6 antibodies titer in patients with multiple sclerosis in Markazy Province

Khaki M¹, Ghazavi A², Ghasami K³, Rafei M⁴, Payani M⁵, Mosayebi G^{6*}

1- Lecturer, MSc of Virology, Department of Microbiology & Immunology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

2-Lecturer, MSc of Immunology, Department of Microbiology & Immunology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

3-Assistant Professor, Neurologist, Department of Internal Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

4-Assistant Professor, PhD of Biostatistics, Department of Health and Epidemiology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

5-Laboratory Expert, Department of Microbiology & Immunology, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

6-Associate Professor, Department of Microbiology & Immunology, Medical-Molecular Center of Arak, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

Received 28 Apr, 2009 Accepted 17 Jun, 2009

Abstract

Background: Multiple sclerosis (MS) is a auto-immune disease of central nervous system. The etiology of MS is unknown, but environmental factors such as viruses are involved in the development of MS. In this study, MS patients were assessed for antibody titers against Human Herpes virus-6 (HHV-6) in Markazi Province.

Methods and Materials: In this case-control study, 31 new cases of MS patients and 60 healthy subjects were selected with similar demographic criteria such as sex, age and location. Antibodies titer (IgM and IgG) against HHV-6 were examined by ELISA and Immunofluorescence methods. Data were analyzed using Logistic regression and Odds ratio.

Results: Data indicates that 74.2% of case group and 34.2% of control group were identified as positive for IgM against HHV-6. The difference between the two groups in terms of IgM against HHV-6 was statistically significant ($p=0.001$). Incidence of IgM positivity against HHV-6 was increased more than five times in MS patients compared to control group. Also there was a statistically significant difference between case and control groups in IgG titer ($p=0.019$).

Conclusion: Acute infection of HHV-6 is a risk factor for MS.

Key words: Multiple Sclerosis, Virus, Antibody

*Corresponding author;

Email: gmosayebi@yahoo.com

Address: Department of Immunology, school of Medicine, Arak University of medical sciences, Arak, Iran.

Postal Code: 38481-76941