

بررسی غلظت گروه و زیر گروه‌های ایمنوگلوبولین و فنوتیپ لنفوسیتی در کودکان قبل و بعد از عمل برداشت آدنویید و لوزه‌ها در مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به اینکه عفونت‌های مزمن لوزتین در دوران کودکی منجر به برداشت این عضو می‌گردد، سالیهاست در محافل علمی این سؤال مطرح است که آیا تونسیلیکتومی و آدنوییدکتومی منجر به اختلال سیستم ایمنی چه به صورت عمومی و چه به صورت موضعی خواهد شد یا خیر؟ لذا در مطالعه اخیر پارامترهای سیستم ایمنی در کودکان قبل و بعد از جراحی لوزه‌ها مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: این مطالعه از نوع مطالعات کوهورت (همگروه) است. در این بررسی ۲۵ کودک (۱۴ مذکر و ۱۱ مؤنث) مراجعه کننده به درمانگاه گوش و حلق و بینی بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص) توسط پزشک متخصص معاینه شده و از آنهایی که کاندید عمل برداشت آدنویید و لوزه شدند، در ۳ نوبت (قبل از عمل، ۲ ماه و ۶ ماه بعد از عمل) نمونه خون جهت اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین‌های IgA، IgM و IgG و زیرکلاس‌های IgG، با روش نفلومتری و جهت شمارش زیر گروه‌های لنفوسیتی (مارکرهای CD2، CD3، CD4، CD8، CD19، CD23 و CD56)، با روش فلوسیتومتری و الیزا، گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری به منظور مقایسه میانگین متغیرهای کمی در گروه‌های وابسته، با آزمون Repeated measures Anova و برای یافتن تفاوت بین گروه‌ها، با آزمون Bonferroni انجام شد.

یافته‌ها: بیماران تحت مطالعه میانه سنی ۸ سال (حداقل ۳ و حداکثر ۱۶ سال) داشتند. در این بیماران سطح آنتی‌بادی IgM و IgG در سه مرحله قبل از عمل، ۲ ماه و ۶ ماه بعد از عمل، هیچ گونه تغییری نداشت. سطح آنتی‌بادی IgA در ۲ ماه و ۶ ماه بعد از عمل نسبت به قبل از عمل، مقداری کاهش یافته بود. سطح آنتی‌بادی زیرکلاس‌های IgG (IgG1، IgG2، IgG3، IgG4) در دو مرحله بعد از عمل نسبت به قبل از عمل، افزایش مختصری داشت. همچنین در این مطالعه آنالیز مارکرهای لنفوسیتی نشان می‌دهد که سلولهای CD4+ و نسبت CD4+/CD8+ و CD23+ در سه مرحله قبل، ۲ ماه و ۶ ماه بعد از عمل هیچ گونه تغییری نداشته است. تعداد سلولهای CD23+ و CD56+ در دو مرحله بعد از عمل نسبت به قبل از عمل، کاهش مختصری داشتند ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود (Pvalue>0/05). میانگین لنفوسیت‌های CD8+ طی این سه مرحله، تفاوت آماری معنی‌داری نشان داده است (Pvalue=0/02). این اختلاف بین نمونه‌های ۲ ماه بعد از عمل با نمونه‌های ۶ ماه بعد از عمل، بارز است (Pvalue=0/03). در مورد میانگین CD19+ نیز تفاوت آماری معنی‌دار دیده شد (Pvalue=0/012). این اختلاف بین نمونه‌های قبل از عمل با نمونه‌های ۲ ماه بعد از عمل، بارز است (Pvalue=0/01).

نتیجه‌گیری: غلظت تمام کلاسهای آنتی‌بادی در بیماران اخیر با افراد به ظاهر سالم که در مطالعه فوق مورد بررسی قرار گرفته‌اند، به مراتب بالاتر است و این تغییر در غلظت IgM در گروه‌های سنی ۳ تا ۸ سال افزایش قابل توجهی نشان می‌دهد که تا ۶ ماه بعد از عمل نیز به غلظت میانه نرمال نمی‌رسد. افزایش غلظت آنتی‌بادی‌ها در افراد با تونسیلیت مزمن مرتبط با تحریک مکرر آنتی‌ژنیک در این بیماران است. به نظر می‌رسد تغییرات غلظت ایمنوگلوبولین‌ها و لنفوسیت‌های T و B بعد از آدنوییدکتومی وابسته به سن باشد. براساس نتایج مطالعه اخیر، عدم تغییر قابل توجه در توانایی سیستم ایمنی در کوتاه مدت اثبات می‌گردد. مقایسه توانایی سیستم ایمنی در افرادی که تونسیلیکتومی شده‌اند با افراد سالم در مطالعات دراز مدت توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: ۱- آدنوییدکتومی ۲- کودکان ۳- زیرگروه‌های لنفوسیتی ۴- ایمنوگلوبولین

تاریخ دریافت: ۸۴/۷/۱۶، تاریخ پذیرش: ۸۴/۱۰/۲۵

مقدمه

تونسیل نازوفارنژیال (آدنویید) و لوزه‌های کامی و زبانی، بخشهای عمده حلقه والدیر هستند. تونسیل‌های لوله‌ای و

(I) استادیار و متخصص بیماری‌های گوش و حلق و بینی و جراحی سر و گردن، مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (* مؤلف مسؤول).

(II) مربی و کارشناس ارشد علوم آزمایشگاهی، مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیابان ستارخان، خیابان نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(III) دانشیار گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(IV) دستیار اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(V) پزشک عمومی

است که اگر چه فعالیت ایمنی قابل توجه حتی در تونسیل‌ها و آدنوییدهای کودکان باقی می‌ماند، تغییرات عملکردی را نمی‌توان با برداشت جراحی این ارگان‌ها جبران کرد؛ لذا نهایتاً می‌توان گفت با وجود برخی تغییرات ایمنولوژیک، همچنان آدنوتونسیلکتومی، بخصوص در سنین پایین، مقبول است.

در بررسی که توسط İkinciogullari در سال ۲۰۰۲ روی کودکان ۱۰-۴ ساله که به علت هیپرتروفی آدنویید و تونسیلیت مزمن تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند، انجام شد، نمونه‌های خون وریدی از بچه‌ها ۴۸-۲۴ ساعت قبل و ۶-۴ هفته بعد از جراحی جهت اندازه‌گیری سطوح آنتی‌بادی‌های سرم (IgG, IgM, IgA) گرفته شد. آنتی‌بادی‌های بیماران قبل و بعد از عمل جراحی در مقایسه با کنترل، مختصری افزایش یافته اما هنوز در محدوده نرمال قرار داشتند. لنفوسیت‌های CD3+, CD4+, CD8+ نوع T و سلولهای کشنده طبیعی CD56+ (Natural killer cells)، هیچ تفاوتی در گروه‌های مورد مطالعه نداشتند اما سطوح سلولهای T فعال در بیماران قبل از عمل جراحی در مقایسه با گروه کنترل، بالاتر بود. بعد از جراحی، کاهش مختصری در سلولهای CD3+, CD4+ و CD25+ نشان داده شد اما سطح لنفوسیت‌های نوع CD8+ بعد از جراحی در مقایسه با گروه کنترل، افزایش قابل ملاحظه‌ای پیدا کردند. قبل از جراحی، کودکانی که تونسیلیت مزمن داشتند، سطوح بالای CD19+ از لنفوسیت‌های B نسبت به گروه کنترل داشتند؛ گرچه بعد از عمل تعداد این سلولها به حالت نرمال برگشتند. در این مطالعه یکی از یافته قابل توجه این بود که فعالیت ایمنی بدن بچه‌هایی که تونسیلیت مزمن داشتند، قبل از آدنوتونسیلیکتومی افزایش یافته است. این یافته نشان می‌دهد که سیستم ایمنی بدن به آنتی‌ژن‌های مختلفی که تونسیلیت مزمن را القا می‌کنند، واکنش نشان می‌دهد.^(۷)

در بررسی که توسط Kaygusuz در سال ۲۰۰۳ منتشر شد، مشخص کردن تغییرات ایمنی هومورال و سلولار در بیماران مبتلا به تونسیلیت مزمن قبل و یک ماه بعد از تونسیلیکتومی، هدف بود که در این بررسی برای ایمنی

باند‌های لاترال فارنژیال نیز اعضای نه چندان برجسته این حلقه می‌باشند.^(۱، ۲) این عناصر لنفوآپیتلیال، بافت لنفوییدی مرتبط با نازوفارنکس (Nasopharyngeal associated lymphoid tissue) را تشکیل می‌دهند که در هر دو سمت مجرای حلقی نازوفارنژیال عقب غضروف کام نرم وجود دارند.^(۳، ۴) عناصر حلقه والدیر چون هم با عوامل هوا و هم عوامل غذایی در تماس هستند، در ایمنی علیه این آنتی‌ژن‌ها نقش دارند. اگر چه تونسیل‌ها و آدنویید بخشی از سیستم MALT (Mucosal associated lymphoid tissue) نیز هستند اما به عقده‌های لنفی هم شباهت دارند و یک نوع ایمنی موضعی را تأمین می‌کنند.

شواهدی از تغییرات ایمنولوژیک بعد از اعمال جراحی بر روی آدنویید و لوزه‌ها وجود دارد، از جمله گزارش اولیه توسط اوگرا که نشان داد تونسیلیکتومی و آدنوییدکتومی در بچه‌ها، سطوح آنتی‌بادی IgA در برابر ویروس پولیو را در ترشحات نازوفارنژیال، به اندازه ۴-۳ برابر و پاسخ ایمنی تاخیری آنها را به واکسن پولیوی خوراکی، کاهش داد. در یک بررسی دیگر دیده شد که تا حدود ۳ سال بعد از انجام تونسیلیکتومی و آدنوییدکتومی، سطوح IgA ترشحاتی پایین می‌ماند. بعلاوه اگر چه داملیو هیچ کاهش را در IgA بزاقی مشاهده نکرد (با وجود افت IgA سرمی)، کانتانی و همکارانش در بچه‌ها، کاهش IgA بزاق و سرم را به میزان قابل توجه، حداقل تا ۴ ماه بعد از آدنوتونسیلیکتومی ملاحظه کردند. اخیراً مطالعات نشان دادند که افزایش ایمنوگلوبولین‌های بزاقی بعد از ۴-۳ سال رخ می‌دهد و در جوانان نیز ۶ ماه بعد اثری از کاهش Ig وجود نخواهد داشت مگر کاهش مختصری در IgM توتال و IgG بزاقی^(۵) علیه استرپتوکوک موتان و (Epstein-Barr virus) EBV. با همه اینها، نیاز به مطالعات ایمنولوژیک وسیع‌تری است که بتوانند اطلاعات را جمع‌بندی کنند.^(۱) بافت لنفاوی القایی حلقه والدیر می‌تواند باعث شود بعد از آدنوتونسیلیکتومی یک کاهش اثر ایمنی رخ دهد. این امکان توسط مطالعات مبنی بر کاهش sIgA در بزاق بچه‌های دچار فارنژییت متعاقب تونسیلیت‌های مکرر، تایید شده است. نکته قابل توجه این

نفلومتری با استفاده از دستگاه نفلومتری شرکت Minieph و کیت نفلومتری شرکت نیما پویش استفاده شد. دو نمونه خون دیگر به فاصله ۲ ماه و ۶ ماه بعد از عمل نیز از بیماران گرفته شد و آزمایش‌های مذکور جهت مقایسه بر روی آنها انجام شد. همچنین پرسشنامه‌ای که بدین منظور تهیه شده بود، توسط پزشک متخصص تکمیل شد.

جهت تجزیه و تحلیل آماری نتایج گردآوری شده، از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. برای توصیف داده‌های کیفی، از نسبت فراوانی (درصد) و برای داده‌های کمی، از شاخص‌های میانه، میانگین، حداقل، حداکثر و انحراف معیار استفاده شد. برای مقایسه میانگین متغیرهای کمی در گروه‌های وابسته، از Repeated measures Anova (General linear model) و برای یافتن تفاوت بین گروه‌ها، از آزمون Bonferroni استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۲۵ کودک مراجعه کننده به درمانگاه ENT (Ear, Nose, Throat) مجتمع حضرت رسول اکرم (ص) پس از معاینه توسط پزشک متخصص و انجام آزمایشات کلینیکی و پاراکلینیکی، کاندید عمل آدنوتونسیلکتومی شده و وارد مطالعه شدند. از این تعداد، ۱۴ نفر (۵۶٪) پسر و ۱۱ نفر (۴۴٪) دختر بودند. میانه سنی آنها، ۸ سال بود (حداقل ۳ و حداکثر ۱۶ سال).

در این بیماران سطح آنتی‌بادی IgM و IgG در سه مرحله قبل از عمل، ۲ ماه و ۶ ماه بعد از عمل، هیچ گونه تغییری نداشت. سطح آنتی‌بادی IgA در ۲ ماه و ۶ ماه بعد از عمل نسبت به قبل از عمل، مقداری کاهش یافته بود. سطح آنتی‌بادی زیر کلاس‌های IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) در دو مرحله بعد از عمل نسبت به قبل از عمل، افزایش مختصری داشت.

همچنین در این مطالعه آنالیز مارکرهای لنفوسیتی نشان می‌دهد که سلول‌های CD4+، نسبت CD4+/CD8+ و CD23+ در سه مرحله قبل، ۲ ماه و ۶ ماه بعد از عمل، هیچ گونه تغییری نداشته است. تعداد سلولهای CD23+ و

سلولی، لنفوسیت‌های CD3+، CD4+، CD8+، CD19+، CD25+، CD16+ و CD56+ برای ایمنی هومورال، IgG، IgA، IgM C3 و C4 اندازه‌گیری شدند. تعداد سلولهای CD3+، CD8+ و CD19+ در دوران بعد از عمل نسبت به دوران قبل از عمل کاهش یافته بود و تعداد لنفوسیت‌های CD4+ افزایش یافته بود و سطوح ایمنوگلوبولین C3 و C4 به طور مشخصی بعد از عمل کاهش یافته بودند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که ایمنی هومورال و سلولی در بیمارانی که عمل تونسیلکتومی دارند، بعد از عمل در مدت کوتاهی کاهش می‌یابد و سپس در طولانی مدت، نرمال می‌شوند.^(۸)

با توجه به اینکه عفونت‌های مزمن لوزتین در دوران کودکی منجر به برداشت این عضو می‌گردد، سالهاست در محافل علمی این سوال مطرح است که آیا تونسیلکتومی و آدنوییدکتومی منجر به اختلال سیستم ایمنی چه به صورت عمومی و چه به صورت موضعی خواهد شد یا خیر؟ لذا در مطالعه اخیر پارامترهای سیستم ایمنی در کودکان قبل و بعد از جراحی لوزه‌ها مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع مطالعات کوهورت (همگروه) است. در این بررسی کودکان مراجعه کننده به درمانگاه گوش و حلق و بینی توسط پزشک متخصص معاینه شده و از آنهایی که کاندید عمل برداشت آدنویید و لوزه شدند، قبل از عمل مقدار ۴ میلی‌لیتر خون جهت اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین‌های سرم و شمارش مارکرهای لنفوسیت T و B گرفته شد. ۲ میلی‌لیتر آن در داخل لوله حاوی ماده ضد انعقاد ریخته شد و از آن جهت شمارش سلولهای ایمنی (CD2، CD3، CD4، CD8، CD19، CD23 و CD56) با روش فلوسیتومتری (شرکت کاویان طب) و الایزا (شرکت نیما پویش) استفاده گردید. ۲ میلی‌لیتر دیگر از خون، داخل لوله آزمایش ریخته شد و پس از لخته شدن، سرم آن، جدا و در ۲۰- درجه نگهداری گردید. پس از به حد نصاب رسیدن، از این سرمها جهت اندازه‌گیری آنتی‌بادی‌های سرم (IgG، IgA و IgM) و ساب کلاس‌های IgG استفاده شد. برای اندازه‌گیری ایمنوگلوبولین‌ها از روش

CD56+ در دو مرحله بعد از عمل نسبت به قبل از عمل، کاهش مختصری داشتند ولی از نظر آماری معنی‌دار نبود (Pvalue>0/05). میانگین لنفوسیت‌های CD8+ طی این سه مرحله، تفاوت آماری معنی‌داری نشان داده است (Pvalue=0/02)، این اختلاف بین نمونه‌های ۲ ماه بعد از عمل با نمونه‌های ۶ ماه بعد از عمل بارز است (Pvalue=0/03). در مورد میانگین CD19+ نیز تفاوت آماری معنی‌دار دیده شد (Pvalue=0/012)، این اختلاف بین نمونه‌های قبل از عمل با نمونه‌های ۲ ماه بعد از عمل بارز است (Pvalue=0/01).

در مقایسه نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه دکتر نیک‌بین^(۹) روی زیر گروه‌های لنفوسیتی در کودکان سالم تهران (در سالهای ۷۸-۱۳۷۷)، مشاهده شد که تعداد سلولهای CD4+ بیماران این مطالعه، قبل از انجام عمل و ۶ ماه بعد از عمل، با کودکان سالم تهران اختلاف معنی‌دار آماری دارد.

جدول شماره ۱- میانگین زیر گروه‌های لنفوسیتی بیماران

pvalue	انحراف معیار	میانگین		تعداد	
		انحراف معیار	میانگین		
		(مطالعه دکتر نیک‌بین با ۱۰۰ نمونه)			
-	-	۴/۴۷	۷۴/۵۴	۲۳	قبل از عمل
-	-	۵/۰۶	۷۵/۶۶	۲۵	۲ ماه بعد از عمل
-	-	۱۴/۰۱	۶۹/۷۹	۲۳	۶ ماه بعد از عمل
-	-	۷/۹۰	۶۲/۱۷	۲۵	قبل از عمل
-	-	۶/۶۰	۶۳/۹۰	۲۴	۲ ماه بعد از عمل
-	-	۱۰/۴۳	۵۹/۶۶	۲۱	۶ ماه بعد از عمل
۰/۰۲	۵/۳۲	۷/۳۹	۳۳/۰۷	۲۴	قبل از عمل
۰/۶۱	۵/۳۲	۱۱/۰۳	۳۵/۴۰	۲۴	۲ ماه بعد از عمل
۰/۰۵	۵/۳۲	۱۲/۵۱	۳۲/۸۸	۲۲	۶ ماه بعد از عمل
۰/۰۰۹	۴/۷۶	۶/۳۱	۲۸/۹۰	۲۴	قبل از عمل
۰/۰۳	۴/۷۶	۶/۰۸	۲۸/۳۱	۲۵	۲ ماه بعد از عمل
۰/۱۵	۴/۷۶	۴/۷۶	۲۴/۲۸	۲۳	۶ ماه بعد از عمل
۰/۵۱	۱/۱۵	۰/۵۰	۱/۲۵	۲۳	قبل از عمل
۰/۸۳	۱/۱۵	۰/۶۴	۱/۳۶	۲۴	۲ ماه بعد از عمل
۰/۹۳	۱/۱۵	۰/۶۴	۱/۴۳	۲۲	۶ ماه بعد از عمل
۰/۰۱۵	۵/۴	۵/۱۷	۱۵/۴۷	۲۵	قبل از عمل
<0/001	۵/۴	۳/۶۱	۱۳/۷۰	۲۵	۲ ماه بعد از عمل
<0/001	۵/۴	۳/۵۹	۱۳/۹۳	۲۳	۶ ماه بعد از عمل
-	-	۳/۰۲	۴/۶۳	۲۱	قبل از عمل
-	-	۲/۴۸	۶/۰۳	۲۳	۲ ماه بعد از عمل
-	-	۳/۰۹	۷/۱۸	۲۲	۶ ماه بعد از عمل
۰/۷۱	۴/۶۹	۶/۲۱	۹/۸۰	۲۵	قبل از عمل
۰/۵۵	۴/۶۹	۵/۶۳	۱۰/۰۵	۲۴	۲ ماه بعد از عمل
<0/001	۴/۶۹	۲/۳۴	۳/۳۰	۱۷	۶ ماه بعد از عمل

جدول شماره ۲- میانگین زیرگروه‌های لنفوسیتی بیماران به تفکیک گروه‌های سنی

گروه‌های سنی	زیرگروه‌های لنفوسیتی	قبل از عمل		۲ ماه بعد از عمل		۶ ماه بعد از عمل	
		میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار
۳-۵	CD2	۷۵/۸۶	۳/۸۳	۷۵/۳۸	۳/۳۵	۴۷/۸۶	۴۰/۴
	CD3	۶۶/۳۱	۹/۶۱	۶۷/۱۷	۵/۶۶	۶۶/۵۶	۸/۴۵
	CD4	۳۳/۹۴	۶/۰۹	۳۷/۶۲	۳/۸۲	۵۴/۲۸	۳۱/۳۳
	CD8	۲۵/۷۳	۰/۷۱	۲۳/۹	۴/۲۵	۲۰/۴۵	۱/۲۸
	CD19	۱۸/۵۳	۳/۹۲	۱۷/۴۵	۱/۸۴	۱۸/۱۲	۱/۶۶
۶-۸	CD23	۷/۳۴	۱/۲۷	۸/۲۲	۰/۶۹	۶/۷۵	۲/۳۸
	CD56	۶/۱۷	۳/۳۲	۵/۳	۱/۹۹	۲/۱۸	۰
	CD2	۷۴/۱۹	۵/۰۶	۷۴/۴	۵/۲۸	۷۰/۰۱	۱۰/۴۹
	CD3	۵۸/۹	۷/۵۴	۶۲/۱۲	۶/۹۶	۶۰/۰۲	۸/۸۳
	CD4	۳۲/۵۴	۸/۵۹	۳۴/۷۳	۱۴/۶۶	۳۱/۶۷	۷/۳۹
	CD8	۲۹/۱۵	۵/۲۲	۲۹/۶۹	۵/۱۸	۲۲/۷۳	۵/۱۷
	CD19	۱۵/۵۷	۵/۷۷	۱۳/۹۵	۳/۷	۱۳/۹۳	۳/۶۸
	CD23	۴/۶	۳/۲۸	۵/۵	۲/۰۵	۶/۶۳	۳/۵۵
	CD56	۱۲/۴۹	۷/۴	۱۱/۳۹	۶/۶۳	۲/۳۷	۲/۵۶
	CD2	۷۴/۶۱	۴/۵۵	۷۷/۸۵	۵/۲	۷۳/۲۶	۶/۷۳
۹-۱۱	CD3	۶۶/۳۵	۳/۹۹	۶۶/۲۳	۶/۴۹	۵۵/۸۷	۱۳/۸۹
	CD4	۳۴/۵۷	۷/۳۶	۳۶/۳۲	۴/۸۵	۲۸/۸۷	۱۰/۴۷
	CD8	۲۸/۸۱	۹/۲۳	۲۸/۰۶	۸/۲	۲۶/۳۵	۲/۷۱
	CD19	۱۵/۹۱	۳/۸۲	۱۲/۹۵	۲/۹۵	۱۳/۹۲	۳/۰۳
	CD23	۴/۶۳	۲/۳۱	۶/۴۲	۲/۳۹	۸/۹۹	۲/۰۵
	CD56	۶/۹	۲/۲۳	۹/۴۹	۴/۰۶	۳/۹۶	۱/۶۹
	CD2	۷۴/۵	۰	۷۶/۶۵	۶/۲۹	۷۸/۳۵	۳/۳۷
	CD3	۶۲/۶۸	۱۵/۰۲	۶۱/۶۲	۶/۰۲	۶۴/۲۵	۲/۷۲
	CD4	۲۹/۶۶	۰/۹۶	۳۰/۹۲	۰	۲۲/۶۹	۰
	CD8	۳۵/۶۷	۰	۲۶/۸۵	۶/۱	۳۰/۲	۰/۶۸
۱۲-۱۶	CD19	۸/۶۷	۱/۶۵	۹/۰۷	۰/۶۴	۹/۷۵	۲/۷۵
	CD23	۰/۸۲	۰/۷۱	۴/۳۸	۵/۸۵	۴/۳۶	۱/۲۷
	CD56	۷/۹۱	۴/۲۴	۱۰/۹	۰	۵/۶۲	۲/۴۵

و مقادیر آنتی‌بادی‌ها با کودکان سالم تهرانی (از مطالعه دکتر نیک‌بین) مقایسه شد.

میانگین ایمنوگلوبولین‌های بیماران در جدول شماره ۳ بیان شده است. در اینجا نیز بیماران به چهار گروه سنی (۳-۵، ۶-۸، ۹-۱۱ و ۱۲-۱۶ سال) تقسیم شدند

جدول شماره ۳- میانگین سطح انواع ایمنوگلوبولین در کل بیماران

انحراف معیار	میانگین	حداکثر	حداقل		
۱/۳۳	۱/۵۲	۷/۴۰	۰/۵۰	قبل از عمل	IgM
۲/۰۹	۱/۷۶	۱۱/۴۵	۰/۸۰	۲ ماه بعد از عمل	
۲/۱۷	۱/۶۲	۱۱/۲۰	۰/۶۲	۶ ماه بعد از عمل	
۰/۷۸	۱/۳۷	۳/۳۹	۰/۴۷	قبل از عمل	IgA
۰/۷۱	۱/۲۷	۳/۳۹	۰/۳۸	۲ ماه بعد از عمل	
۰/۶۱	۱/۲۳	۳/۲۸	۰/۴۱	۶ ماه بعد از عمل	
۲/۸۷	۱۰/۳۷	۱۷/۶۹	۴/۲۱	قبل از عمل	IgG
۲/۱۶	۱۰/۵۲	۱۴/۲۸	۷/۴۷	۲ ماه بعد از عمل	
۲/۵۰	۱۱/۰۵	۱۷/۷۲	۷/۵۳	۶ ماه بعد از عمل	
۱۹/۳۴	۴۰/۵۱	۷۸/۷۷	۱۴/۳۶	قبل از عمل	IgG1
۱۷/۱۱	۴۰/۰۲	۸۰/۶۱	۱۸/۰۱	۲ ماه بعد از عمل	
۱۶/۱۱	۴۶/۲۹	۷۷/۳۸	۲۰/۶۸	۶ ماه بعد از عمل	
۳۷/۰۸	۱۰۰/۶۶	۲۰۵/۱۵	۴۶/۹۲	قبل از عمل	IgG2
۴۱/۱۳	۱۰۵/۲۶	۱۹۴/۴۲	۶۴/۱۴	۲ ماه بعد از عمل	
۳۰/۸۴	۱۰۱/۵۹	۱۵۸/۸۰	۴۳/۵۱	۶ ماه بعد از عمل	
۹/۹۰	۲۵/۸۰	۵۶/۲	۴/۲	قبل از عمل	IgG3
۱۰/۵۶	۲۲/۲۹	۵۲/۳	۵/۱	۲ ماه بعد از عمل	
۸/۷۹	۲۲/۸۰	۴۰/۵	۶/۴	۶ ماه بعد از عمل	
۱۶/۱۳	۲۱/۶۷	۵۶/۲۰	۲/۷۹	قبل از عمل	IgG4
۱۹/۲۴	۲۳/۹۲	۶۴/۸۰	۲/۴۰	۲ ماه بعد از عمل	
۱۶/۵۰	۲۲/۶۶	۵۱/۸۰	۲/۳۰	۶ ماه بعد از عمل	

بحث

مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، به مراتب بالاتر است و این تغییر در غلظت IgM، در گروه‌های سنی ۵-۳ سال و ۸-۶ سال، افزایش قابل توجهی نشان می‌دهد که تا ۶ ماه بعد از عمل نیز به غلظت میانه نرمال نمی‌رسد. افزایش غلظت آنتی‌بادی‌ها در افراد با تونسیلیت مزمن، مرتبط با تحریک مکرر آنتی‌ژنیک در این بیماران است. چنانچه در تحقیق El Ashmaay و همکاران (۱۹۸۰) نیز این موضوع تایید گردیده ولی در تحقیق فوق، بعد از عمل تونسیلیکتومی غلظت IgG به حالت نرمال بازگشته است. کاهش این آنتی‌بادی نیز می‌تواند به دلیل کاهش برخورد آنتی‌ژنیک و کاهش بافت‌های لنفاوی تولید کننده آنتی‌بادی و تغییر و یا کاهش پاتوژن‌های اوروفارنکس باشد. البته در تحقیق فوق این تغییرات ۲ ماه بعد از جراحی و در ۱۰ بیمار انجام گرفته و روشی نیز که برای اندازه‌گیری

در مطالعه اخیر ۲۵ کودک که کاندید جراحی لوزه‌ها و آدنویید بودند، انتخاب گردیدند. ۵۶٪ بیماران دختر و ۴۴٪ پسر با میانگین سنی ۸ سال بودند. در سه مرحله قبل از جراحی، ۲ و ۶ ماه بعد از جراحی، از کلیه بیماران، نمونه‌برداری و آزمایشات مربوطه انجام شد.

غلظت کلاس‌های مختلف آنتی‌بادی و زیرکلاس‌های IgG در مجموع تمام گروه‌های کلاس آنتی‌بادی قبل و بعد از عمل، کاهش نسبی مختصری نشان می‌دهد که فاقد ارزش آماری است. غلظت سرمی IgM، IgG و IgA در بیمارانی که کاندید عمل تونسیلیکتومی هستند، با تحقیق دکتر نیک‌بین و همکاران^(۹) مقایسه گردید. غلظت تمام کلاس‌های آنتی‌بادی در بیماران اخیر با افراد به ظاهر سالم که در تحقیق فوق

نمونه‌برداری از خون محیطی، انجام و به کمک روش فلوسیتومتری زیرگروه‌های CD2+, CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD23+ و CD56+ شمارش گردیدند. تعداد سلولهای با مارکرهای CD2 و CD3، کاهش مختصری در فاصله ۲ تا ۶ ماه بعد از جراحی نشان می‌دهند که بعد از ۶ ماه به میزان قبل از عمل باز می‌گردد. در حالی که تعداد سلولهای CD4، تغییر با ارزشی ندارد ولی تعداد سلولهای CD8 از ۲ ماه بعد از عمل، کاهش معنی‌دار دارد که بعد از ۶ ماه نیز، این روند نزولی ادامه دارد. در مطالعات متعددی که در حیوانات انجام شده، تراکم سلولهای CD4 و CD8 و نحوه استقرار بافتی و زمان بندی انتشار سلولی بعد از تولید، مورد مطالعه قرار گرفته است. براساس مطالعه Manses (۱۹۹۸) که به کمک روشهای ایمنوهایستوشیمیایی تراکم سلولهای T در لوزتین کام و حلق در گوساله انجام شده است (نمای بافتی لوزه‌ها در گاو و گوساله الگوی کاملاً مشابهی با لوزه‌های انسانی دارد)^(۱۴)، تعداد سلولهای CD8+ در میان سلولهای پوششی و مخاط بیش از سایر رده‌های سلولی است و سلولهای CD4+ با مقدار کمتری فقط در کانون‌های زایا (Germinal centers) در فولیکول‌های لنفاوی واقع گردیده‌اند. سلولهای CD8+ در بافت پوششی مخاطی (Epithelial cytotoxic cells)، نقش دفاع مخاطی اولیه را بعد از برخورد با پاتوژن‌های تنفسی به عهده دارند و تحریک اعضاء لنفاوی مجاری تنفسی به کمک Concanavalin A نیز منجر به افزایش سلولهای CD8+ می‌شود، در حالی که سلولهای CD4، تغییر محسوسی ندارند (Hurler 1994)^(۱۵). نتایج حاصله از تحقیق اخیر نیز مطالعات آزمایشگاهی فوق را تایید می‌نماید. سلولهای CD19+، ۲ ماه بعد از جراحی، کاهش نسبی و معنی‌دار دارند که روند کاهش تا ۶ ماه، بدون تغییر باقی می‌ماند. به نظر می‌رسد این روند تغییر در سلولهای CD19+ و CD23+ حاصل گردیده، زیرا سلولهای CD23+ تغییر محسوسی ندارند. البته باید توجه داشت درصد کمی از سلولهای مورد مطالعه در تحقیق اخیر واجد CD23 بوده‌اند و نوسات سلولی در بیماران مورد مطالعه نیز زیاد بوده است.

ایمنوگلوبولین‌ها بکار رفته (روش ایمنوادیفیوژن شعاعی)، فاقد حساسیت کافی است.^(۱۰) نتایج تحقیق انجام شده در ایران با گزارش Gogoi و همکاران (۱۹۷۹) تطابق ندارد، چون در این تحقیق اندازه‌گیری کلاس‌های آنتی‌بادی قبل و بعد از جراحی در ۸۰ بیمار، هیچ گونه تغییری را نشان نمی‌دهد.^(۱۱) قضاوت صحیح‌تر در مورد عدم کاهش ایمنوگلوبولین‌ها نیاز به مطالعه دقیق‌تری دارد. لذا به نظر می‌رسد روند تغییرات آنتی‌بادی‌ها در کودکان ممکن است تا ۲ سال بعد از جراحی رو به نزول گذارد زیرا بعضی از آنتی‌بادی‌ها از جمله IgA از نظر آنتی‌ژنیک در سنین ۸-۶ سال، به حد بالغین می‌رسند. لذا در کودکان کمتر از ۷ سال توانایی تولید و ترشح IgA نسبت به پاتوژن‌های مخاطی، کامل نیست و بنابراین تغییرات در این سنین بعد از تونسیلکتومی فاقد ارزش علمی است. آنتی‌بادی‌های اختصاصی نسبت به پاتوژن‌های تنفسی ممکن است بعد از تونسیلکتومی کاهش یافته باشد، در حالی که آنتی‌بادی‌های توتال، تغییر محسوس آماری ندارند. چنانچه در مطالعه Filatova و همکاران (۲۰۰۲) اثبات گردیده است که آنتی‌بادی ضد هموفیلوس آنفلوانزا، پنوموکوک و استرپتولیزین O بعد از جراحی کاهش معنی‌دار دارد.^(۱۲)

تغییرات غلظت زیرکلاس‌های IgG1 و IgG4 که در تحقیق اخیر مورد مطالعه قرار گرفته، اولین گزارش رسمی در این زمینه محسوب می‌شود. از نظر ایمنوپاتوژنز از میان زیرکلاس‌های فوق، IgG2 از اهمیت بیشتری برخوردار است، چون این زیرکلاس IgG به طور ویژه در برابر آنتی‌ژن‌های پلی‌ساکاریدی باکتریایی که در بروز تونسیلیت مزمن موثرند، سنتز می‌شود، زیرا غالب باکتری‌های خارج سلولی مولد این بیماری، از گروه کوکسی‌های پیورژنیک کپسولدار مانند پنوموکوک و استرپتوکوک‌های گروه B می‌باشند. نتایج حاصله از اندازه‌گیری غلظت ایمنوگلوبولین که در تحقیق اخیر انجام گردیده است، با مطالعه Redondo (۲۰۰۰) و Ikinciugallari (۲۰۰۲) تطابق دارد.^(۱۳) برای مطالعه تغییرات ایمنی سلولی زیر گروه‌های لنفوسیتی، قبل از جراحی، ۲ و ۶ ماه بعد از جراحی

اغلب اعضای لنفاوی مملو از سلولهای خاطره‌ای هستند، برداشت لوزتین صدمات محدودتری برای سیستم ایمنی دارد (Wysocka و همکاران ۲۰۰۳).^(۱۷)

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد تغییرات غلظت ایمونوگلوبولین‌ها و لنفوسیت‌های T و B بعد از آدنوییدکتومی وابسته به سن باشد. در برخی گزارشات نیز، افزایش سلولهای B و T را که بعد از مدت کوتاهی از جراحی ملاحظه کرده‌اند، به تحریک جبرانی مغز استخوان برای تولید سلولهای سیستم ایمنی بعد از برداشت بافت لنفاوی نسبت می‌دهند و کاهش نسبی این سلولها بعد از جراحی نیز ممکن است در کودکان بیش از ۷ سال که سیستم ایمنی تکامل یافته‌تری دارند، دیده شود که دلیل آن نیز عدم تحریک مزمن سیستم ایمنی بعد از برداشت لوزه‌ها و حذف پاتوژن‌های محرک بافتهای لنفاوی می‌باشد. نهایتاً چنین به نظر می‌رسد که با توجه به نزول نسبی سلولهای سیستم ایمنی و کاهش غلظت IgG و تثبیت میزان این آنتی‌بادی در حد طبیعی، اختلال مهمی در توانمندی سیستم ایمنی کودکان بعد از آدنوییدکتومی بوجود نیاید. براساس نتایج تحقیق اخیر، عدم تغییر قابل توجه در توانایی سیستم ایمنی در کوتاه مدت اثبات می‌گردد و مقایسه توانایی سیستم ایمنی در افرادی که تونسیلکتومی شده‌اند با افراد سالم در مطالعات دراز مدت توصیه می‌شود.

تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران در قالب طرح تحقیقاتی (شماره ثبت: ۹۹۸) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین آن مرکز ابراز می‌دارند.

فهرست منابع

1- Dolen WK, Spofford B, Selner JC. The hidden tonsils of waldeyer's ring. *Ann Allergy* 1990 Oct; 65(4): 244-8.

مطالعه اخیر با یافته Ikiniciugullari (۲۰۰۲) تطابق دارد که در مطالعه فوق نیز افزایش سلولهای T و B (CD_8^+ , CD_3^+)، CD_{19}^+/CD_{23}^+ و کاهش سلولهای CD_{19}^+ اثبات گردیده است.^(۷) بیماران مبتلا به تونسیلیت مزمن قبل از جراحی، افزایش نسبی سلولهای CD_{19}^+ در مقایسه با افراد به ظاهر سالم را نشان می‌دهند که بعد از جراحی این میزان به حالت نرمال باز می‌گردد. در Kayqusuz و همکاران (۲۰۰۳) تغییرات ایمنی سلولی در ۳۷ بیمار قبل از جراحی و یک ماه بعد از جراحی مورد مطالعه قرار گرفته و کاهش سلولهای CD_8^+ ، CD_3^+ و CD_{19}^+ بعد از جراحی به اثبات رسیده است که نتایج تحقیق فوق با پژوهش انجام شده اخیر، تطابق دارد.^(۸) تغییر سلولهای CD_{56}^+ (NK cell) تا ۲ ماه بعد از جراحی نامحسوس بوده و در حد فاصل ۲ تا ۶ ماه بعد از جراحی به ۱/۳ میزان قبل و ۲ ماه بعد از عمل تنزل یافته است ($P < 0.01$). عدم کاهش این سلولها ۲ تا ۶ ماه بعد از جراحی با نتایج Kayqusuz که تا یک ماه بعد از جراحی را بررسی نموده، تطبیق می‌کند ولی بررسی تعداد سلولهای CD_{56}^+ تا ۶ ماه بعد از جراحی توسط سایر محققین مورد مطالعه قرار نگرفته است.^(۸)

براساس مطالعه Bock و همکاران (۱۹۹۴) پارامترهای سیستم ایمنی در ۱۶۰ کودک از ۶ ماه تا ۱۱ سال بعد از جراحی مطالعه گردیده است و نتایج حاصله با ۳۰۲ مورد کودک به ظاهر سالم مقایسه شده است.^(۱۶) با توجه به افزایش اندک در سلولهای CD_{21}^+ ، CD_4^+ ، CD_8^+ و DR^+ و عدم شیوع عفونت‌های مجاری تنفسی فوقانی، چنین نتیجه‌گیری می‌شود که تغییرات جزئی سیستم ایمنی منجر به اختلال مهم بالینی و نارسایی ثانویه سیستم ایمنی نخواهد شد، بخصوص اگر برداشت لوزه‌ها در کودکان در سنین بالای ۵ سال انجام شده باشد، زیرا در سنین کمتر از ۵ سال تراکم سلولهای $CD_{45} RO^+$ و CD_4^+ (سلولهای خاطره‌ای) در بافتهای لنفاوی، کمتر از سلولهای CD_4^+ و $CD_{45} RA^+$ است؛ لذا زمانی که در اثر تحریک مکرر آنتی‌ژنیک، غالب سلولهای ساده (Naive) به سلولهای خاطره‌ای تبدیل شده و

14- Manesse M, Delverdier M, Abella-Bourges N, Sautet J, Cabanie P, Schelcher F. An immunohistochemical study of bovine palatine and pharyngeal tonsils at 21, 60 and 300 days of age. *Anat Histol Embryol* 1998 Jun; 27(3): 179-85.

15- Hurley DJ, Wilson RA, Baldwin CL, Liu JY, Mastro AM. Characterization of resting and phorbol ester or concanavalin A activated bovine lymph node cells with leukocyte specific monoclonal antibodies. *Vet Immunol Immunopathol* 1994 Jan; 40(1): 49-61.

16- Bock A, Popp W, Herkner KR. Tonsillectomy and the immune system: A long-term follow up comparison between tonsillectomized and non-tonsillectomized children. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994; 251(7): 423-7.

17- Wysocka J, Hassmann E, Lipska A, Musiatowicz M. Naive and memory T cells in hypertrophied adenoids in children according to age. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003 Mar; 67(3): 237-41.

2- Perry M, Whyte A. Immunology of the tonsils. *Immunol Today* 1998 Sep; 19(9): 414-21.

3- Kuper CF, Koornstra PJ, Hameleers DM, Biewenga J, Spit BJ, Duijvestijn AM, et al. The role of nasopharyngeal lymphoid tissue. *Immunol Today* 1992 Jun; 13(6): 219-24.

4- Fukuyama S, Hiroi T, Yokota Y, Rennert PD, Yanagita M, Kinoshita N, et al. Initiation of NALT organogenesis is independent of the IL-7R, LTbeta R, and NIK signaling pathways but required the Id2 gene and CD3(+) CD4(+) CD45(+) cells. *Immunity* 2002 Jul; 17(1): 31-40.

5- Jeschke R, Stroder J. Continual observation of clinical and immunological parameters, in particular of salivary IgA, in tonsillectomized children. *Klin Pediatr* 1980 Jan; 192(1): 51-60.

6- Kirstila V, Tenovuo J, Ruuskanen O, Suonpaa J, Meurman O, Vilja P. Longitudinal analysis of human salivary immunoglobulins, nonimmune antimicrobial agents, and microflora after tonsillectomy. *Clin Immunol Immunopathol* 1996 Aug; 80(2): 110-5.

7- Ikinciogullari A, Dogu F, Egin Y, Babacan E. Is immune system influenced by adenotonsillectomy in children? *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2002 Dec 2; 66(3): 251-7.

8- Kaygusuz I, Godekmerdan A, Karlidag T, Keles E, Yalcin S, Aral I, et al. Early stage impacts of tonsillectomy on immune functions of children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2003 Dec; 67(12): 1311-5.

۹- نیک‌بین محمد، قاسمی محسن، بررسی زیرگروه‌های لنفوسیتی به روش فلوسیتومتری در کودکان ۲ تا ۸ ساله سالم تهران در سالهای ۱۳۷۷-۱۳۷۸، پایان نامه جهت دریافت کارشناسی ارشد ایمنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۷۸.

10- El-Ashmawy S, Taha A, Fatt-hi A, Basyouni A, Zaher S. Serum immunoglobulins in patients with chronic tonsillitis. *J Laryngol Otol* 1980 Sep; 94(9): 1037-45.

11- Gogoi D, Gupta OP, Agarwal MK, Gupta RM. Immunological evaluation of children undergoing tonsillectomy. *J Otolaryngol* 1979 Dec; 8(6): 508-14.

12- Filatova SV, Simonova AV, Artem'ev ME, Golubeva NM. Immune status of patients with chronic tonsillitis before and after tonsillectomy. *Vestn Otorinolaringol* 2002; (1): 18-21.

13- Redondo Ventura F, Guerrero Gilabert D, Reina Garcia P, Lopez Aguado D. Serum immunoglobulin levels in tonsillectomized patients, An unsolved mystery. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2000 Jun-Jul; 51(5): 403-6.

Evaluation of Immunoglobulin Classes and Subclasses and Lymphocytes' Phenotypes in Children Undergoing Adenotonsillectomy in ENT and Head & Neck Research Center (Rasoul-e-Akram Hospital)

^I **E. Amin Tehran, M.D.* ^{II} *A. Tabatabaee, MSc* ^{III} *M. Shekarabi, Ph.D.*
^{IV} *A.R. Shamshiri, M.D.* ^V *Sh. Javadi Nia, M.D.* ^V *N.S. Alirezaee, M.D.*

Abstract

Background & Aim: Chronic infection of tonsils in childhood is a leading cause of adeno-tonsillectomy. A question has been asked for a long time to find out whether there is any risk of immune impairment after adenotonsillectomy. Therefore, the present study was undertaken to evaluate immunologic parameters in children before and after adenoidectomy.

Patients & Methods: In this cohort study, 25 children (14 male and 11 female) candidate for adenotonsillectomy enrolled in Rasoul-e-Akram Hospital. Adequate blood samples were taken in 3 intervals (before surgery and 2 and 6 months after surgery) from patients to measure immunoglobulins IgA, IgM, IgG and IgG subclasses by nephelometry assay and count lymphocyte subsets (markers CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD23 and CD56) by flowcytometry and ELISA methods. The data was analyzed by repeated measures (Anova and Bonferroni statistical tests).

Results: Enrolled patients had median age of 8 years (range 3 to 16 years). IgM and IgG were equal in 3 intervals. IgA somewhat dropped after surgery (2 and 6 months after surgery vs. before surgery) and IgG subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4) had small rise after surgery. According to lymphocyte subsets CD4+ and CD23+ cells and CD4/CD8 ratio were constant through the 3 intervals. CD23+ and CD56+ cells had small drop in both intervals after surgery vs. before surgery, but these differences were not statistically significant ($P > 0.05$). Mean CD8+ cells had significant changes during these intervals ($P = 0.02$) especially between specimens before and 2 months after surgery ($P = 0.03$). Same pattern was seen for CD19+ cells ($P = 0.012$ and 0.01 respectively).

Conclusion: Comparing immunoglobulins of the patients with normal ranges revealed that all antibody classes were highly above normal levels. IgM level in patients with 3 to 8 years remained above median normal level even 6 months after surgery. High antibody level in patients is related to recurrent antigenic stimulation of their immune system. Evaluation of the results in age groups also revealed that changes in immunoglobulins and T and B lymphocytes after adenoidectomy seems to be related to age. Results showed that immune system did not change in short term after adenoidectomy. However, more studies must be conducted to compare patients' immune system with that of normal subjects in a long term evaluation.

Key Words: 1) Adenoidectomy 2) Children 3) Lymphocyte Subsets 4) Immunoglobulin

*I) Assistant Professor of ENT, Head & Neck Surgery. ENT and Head & Neck Research Center. Hazrat Rasoul Hospital. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (*Corresponding Author)*

II) MSc in Laboratory Sciences. Instructor. ENT and Head & Neck Research Center. Hazrat Rasoul Hospital. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

III) Associate Professor of Immunology Department. School of Public Health. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

IV) Epidemiology Resident. School of Public Health. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

V) General Practitioner.