

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره هشتم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۸۸-۱۴۰۲

بررسی وضعیت عفونت نهفته هپاتیت B در بیماران تالاسمی آلوده به هپاتیت C استان کرمان در سال ۱۳۸۶

محمد کاظمی عرب‌آبادی^۱، غلامحسین حسن‌شاهی^۲، محسن رضائیان^۳، ابراهیم رضازاده‌زرندی^۴،

رضا وزیری‌نژاد^۵

دریافت مقاله: ۸۷/۱۰/۱۴ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۷/۱۲/۱۸ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۸/۸/۱۹ پذیرش مقاله: ۸۸/۹/۲۹

چکیده

زمینه و هدف: بیماران مبتلا به تالاسمی به علت دریافت خون به طور مستمر در معرض ابتلا به بیماری‌های عفونی منتقله از طریق خون مثل هپاتیت B و C می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی میزان شیوع عفونت نهفته هپاتیت B و شاخص‌های آن در بیماران مبتلا به تالاسمی آلوده به ویروس هپاتیت C بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، در طی ماههای فروردین تا شهریور ۱۳۸۷ از دو مرکز شهرستان‌های کرمان و رفسنجان تعداد ۶۰ نفر بیمار مبتلا به تالاسمی از نظر آلوده به ویروس هپاتیت C با روش Reverse Transcription-PCR مورد بررسی قرار گرفتند. سپس موارد آلوده به ویروس هپاتیت C، از نظر آلوده به ویروس هپاتیت B با روش PCR و میزان Ag anti-HBc HbsAg anti-HBc و anti-HBc با روش الیزا بررسی شد.

یافته‌ها: مطالعه حاضر نشان داد که ۲۷ نفر از افراد مورد مطالعه (۴۵٪)، آلوده به HCV بودند، اما هیچ‌گونه آلوده‌گی به HCV در افراد آلوده به HBV مشاهده نشد. نتایج این مطالعه هم‌چنین نشان داد که ۹ نفر (۳۳٪) از افراد آلوده به HBV از نظر anti-HBc و ۱۱ نفر (۴۰٪) از نظر HCV مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که شیوع عفونت نهفته هپاتیت B (Occult Hepatitis B Infection) در بیماران مورد مطالعه (برخلاف آلوده‌گی به HCV) بسیار پایین است. این حالت می‌تواند احتمالاً به علت اثر مهاری HCV بر سیستم ترجمه سلول میزان و متعاقباً HBV باشد.

واژه‌های کلیدی: هپاتیت B، هپاتیت C، HBV، HCV، عفونت نهفته هپاتیت B، تالاسمی

۱- (نویسنده مسئول) مریمی، گروه آموزشی اینمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
تلفن: ۰۳۹۱-۵۲۳۴۰۰۳، دورنگار: ۰۳۹۱-۵۲۲۵۰۹، پست الکترونیکی: kazemi24@yahoo.com

۲- استادیار گروه آموزشی خون‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۳- دانشیار گروه آموزشی پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۴- مریمی گروه آموزشی میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

۵- دانشیار گروه آموزشی پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

مقدمه

عفونتهاي هپاتيت B و هپاتيت C از علل اصلی بيماري هاي کبدي در بيماران تالاسمي مى باشند [۱-۲]. عفونت نهفته هپاتيت B (OBI) شكل شناخته شده جديدي از عفونت هپاتيت B است که با عدم وجود HBsAg و وجود HBV-DNA مشخص مى شود [۳-۴]. اين شكل از عفونت مى تواند با عوارض و آسيبهای متعددی از جمله سيروز و سرطان کبد همراه باشد [۳-۶]. از جمله سازوکارهای ايجادکننده OBI، همراه شدن اين عفونت با عفونت هپاتيت C است [۵] در يك مطالعه گزارش شده است که پروتئين مرکزي ويروس هپاتيت C (HCV) باعث تنظيم کاهشي بيان پروتئين هاي ميزبان و ديگر ويروس هاي آلوده کننده سلول ميزبان از جمله ويروس هپاتيت B (HBV) مى شود [۵]. به استناد همین مطالعه، زمانی که اين دو عفونت به طور هم زمان ايجاد مى شوند ممکن است که پروتئين HBsAg توسط HBV بيان نشود [۵]. بيماران مبتلا به تالاسمي به علت دريافت مستمر خون، در معرض ابتلا به بيماري هاي عفوني منتقله از طريق خون مثل هپاتيت B و هپاتيت C مى باشند [۷]. اگر چه ميزان شيع عفونت نهفته هپاتيت B و عفونت همزمان اين دو بيماري در اين دسته بيماران مشخص نیست اما وجود عفونت نهفته هپاتيت B در بيماران آلوده به هپاتيت C، سرطان سلول هاي کبدي، بيماران دياليزی، بيماران آلوده به HIV، بيماران دريافت کننده دائمي خون (مانند بيماران هموفيلي و ...) و اهدا کنندگان خون در دو گزارش منتشر شده است [۳,۵]. هدف از اين مطالعه بررسی ميزان شيع عفونت نهفته هپاتيت B در بيماران مبتلا به تالاسمي آلوده به HCV و همچنان بررسی شاخص هاي مربوط به HBV در اين دسته بيماران بود.

مواد و روش‌ها

روش انتخاب نمونه‌ها و جمع‌آوری داده‌ها: اين مطالعه مقطعی در طی ماههای فروردین تا شهریور ۱۳۸۷ طراحی گردید. جمعیت مورد مطالعه تمامی بيماران تالاسمی مراجعه کننده به دو مرکز بيمارستان علی ابن‌ابطال (ع) رفسنجان (۲۵ نفر) و بنیاد خيريه ثامن‌الحجج كرمان (۳۵ نفر) بودند. در مجموع از ۶۰ نفر بيمار مبتلا به تالاسمي مراجعه کننده به دو مرکز، نمونه خون با رضایت کتبی و طی مراجعات معمول ايشان به مراکز فوق گرفته شد. اطلاعات مربوط به سن، جنس و مدت زمان دريافت خون توسط پريش‌نامه جمع‌آوری شد. لازم به ذكر است که تمامی بيماران بر عليه هپاتيت B واكسينه شده بودند. ابتدا بيماران تالاسمي از نظر HCV مورد بررسی قرار گرفتند و در ادامه بيماران آلوده به HCV از نظر anti-HBs، HBV-DNA و شاخص‌های HBV (anti-HBc) ارزیابی شدند. تمامی نمونه‌های HCV مثبت که آلودگی آنها در طی مطالعه قبل با روش RT-PCR به اثبات رسیده بود [۸] وارد اين مطالعه شدند.

تست‌های الیزا: برای بررسی نمونه‌ها از نظر HBsAg، anti-HBs و anti-HBc از کیت‌های الیزا تجاری (RADIM, Italy) استفاده شد. اساس کیت اندازه‌گیری anti-HBs، ساندویچ و کیت‌های anti-HBc و anti-HBc Ag رقابتی بود.

استخراج DNA ويروسی: برای استخراج HBV-DNA ابتدا ۱۰۰ ميكروليتر پلاسمما با ۱۰۰ ميكروليتر پروتئيناز k مخلوط و به مدت ۱۰ دقيقه در حمام آب ۷۲ درجه سانتي گراد و ۵ دقيقه در ۴ درجه سانتي گراد نگهداري شد، سپس استخراج توسط روش فنل/کلروفرم انجام شد. بعد از ته نشين کردن DNA توسط اتانول، مقدار ۳۰

ثبت بودن نمونه است. در ضمن برای نشان دادن اندازه باند از نشانگر ۱۰۰ جفت بازی از شرکت سیناژن استفاده شد.

آزمون آماری: اطلاعات به دست آمده توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۱۱ مورد پردازش قرار گرفت. از آزمون آماری استفاده گردید و سطح معنی داری $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

آزمایشات HCV-RNA RT-PCR (طی مدت ۶ ماه) نشان داد که ۲۷ نفر از ۶۰ بیمار مورد مطالعه (۴۵٪) آلوده به هپاتیت C بودند. ۱۶ نفر (۵۹٪) از افراد آلوده به هپاتیت C مرد و ۱۱ نفر (۴۰٪) زن بودند. میانگین سنی بیماران آلوده و غیرآلوده در جدول ۱ آورده شده است. همان‌گونه که جدول نشان می‌دهد تفاوت دو گروه از نظر سن دارای اختلاف معنی دار آماری می‌باشد ($p < 0.05$).

میکرولیتر آب فاقد آنزیم DNase به آن اضافه گردید و در دمای ۲۰-درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۵).

PCR: PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر همانند RT-PCR به انجام رسید با این تفاوت که از DNA استخراج شده به جای cDNA استفاده شد. ترتیب توالی پرایمر جلو برنده ۵'-TAT GTT TCC CTC CTG CTG CT-۳' توالی پرایمر معکوس ۵'-CCC CCA ACT CCC AAT TCT AT-۳' از ژنوم HBV تکثیر شد. سیکل‌های PCR به این گونه بود: یک سیکل ۹۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و سپس ۳۵ سیکل به صورت: ۹۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه. یک نمونه کنترل مثبت از ژنوم HBV از شرکت سیناژن تهیه شد و مورد استفاده قرار گرفت. الکتروفورز مانند مرحله قبل انجام شد. وجود باند ۵۰۰ جفت بازی نشانگر

جدول ۱- مقایسه بیماران تالاسمیک آلوده و غیرآلوده به ویروس هپاتیت C از نظر سن

HCV	منفی	تعداد	میانگین سن	انحراف معیار	حداقل	حداکثر	نتایج آزمون
		۳۳	۱۰/۱۳	۵/۱۸	۱	۲۳	[*] $p < 0.05$
	مثبت	۲۷	۱۴/۵۰	۶/۰۷	۲	۲۵	
جمع		۶۰	۱۲/۱۰	۵/۹۷	۱	۲۵	[*] $p < 0.05$

*: تفاوت معنی دار آماری (T -test, case VS control) $p < 0.05$.

اطلاعات به دست آمده حاصل از پرسشنامه‌ها مبنی بر مدت دریافت خون بر حسب ماه، بر وجود اختلاف معنی دار آماری در این بیماران دلالت می‌کند ($p < 0.05$) (جدول ۲).

نتایج نشان داد که ۵۰٪ از مردان و ۴۱٪ از زنان آلوده به HCV بودند. با انجام آزمون آماری t بین دو گروه اختلاف معنی دار آماری مشاهده نشد.

جدول ۲- مقایسه بیماران تالاسمیک آلوده و غیرآلوده به ویروس هپاتیت C از نظر مدت زمان دریافت خون.

آزمون	نتایج	حداکثر	حداقل	انحراف معیار	میانگین مدت دریافت خون بر حسب ماه	تعداد	HCV
							منفی
	۲۶۴	۶	۶۱/۴		۱۱۰/۳۱	۳۳	منفی
*P<0.05	۲۷۶	۱۲	۷۰		۱۶۱/۲۵	۲۷	ثبت
	۲۷۶	۶	۶۹/۳۱۲		۱۳۳/۲۷	۶۰	کل

* : تفاوت معنی دار آماری (T -test, case VS control) $p<0.05$

مطالعه ای می باشد که به بررسی شیوع عفونت نهفته هپاتیت B در بین بیماران تالاسمی آلوده به HCV پرداخته است. نتایج مطالعه Arababadi و همکاران بر روی بیماران دیالیزی آلوده به HCV با نتایج این مطالعه کاملا مشابه داشت [۵]. از آنجایی که هر دو دسته این بیماران به طور دائم خون و فرآورده های آن را دریافت می کنند، شاید بتوان این گونه نتیجه گرفت که خون های آلوده دلیل اصلی آلودگی به HCV و بالعکس، پاک بودن خون های تزریقی مانع از آلودگی به HBV شده است. اما مطالعات مختلفی بر روی میزان anti-HBc در این دسته بیماران انجام شده است. مطالعات در ژاپن نشان می دهند که ۸۱٪ بیماران مبتلا به هپاتیت C در ژاپن [۱۰] و ۲۱٪ از این دسته از بیماران در برزیل [۱۱] دارای anti-HBc بودند. با توجه به نتایج مطالعات قبلی محققین حاضر شاید بتوان این گونه نتیجه گیری کرد که شیوع anti-HBc در بیماران مبتلا به هپاتیت C بالاتر از دیگر افراد است. زیرا مطالعات قبلی بر روی اهداء کنندگان خون، میزان شیوع را ۵/۱۸٪ [۳] و ۸٪ [۴] نشان داد. شیوع بالاتر anti-HBc در این دسته از بیماران توسط دیگر محققین نیز به اثبات رسیده است. نتایج مطالعه ای در چین با نتایج این مطالعه هم خوانی دارد [۱۲]. اما در مورد شیوع OBI در اهداء کنندگان خون نتیجه کاملاً بر عکس است زیرا

با بررسی سرم بیماران از نظر وجود HBsAg مشخص شد که تمام نمونه ها از نظر این شاخص منفی هستند اما ۹ نفر (۳٪) از ۲۷ بیمار آلوده به HCV دارای anti-HBc و ۱۱ نفر (۴٪) نفر دارای anti-HBs بودند. مطالعات حاصل از PCR HBV-DNA نیز نشان داد که تمامی بیماران تالاسمی آلوده به هپاتیت C، از نظر HBV-DNA منفی بودند.

بحث

شیوع بالای ۴۵ درصدی آلودگی به HCV در بیماران مبتلا به تالاسمی با مطالعات دیگر محققین هم خوانی دارد. نتایج تحقیق حاضر همانند دیگر گزارش ها از سراسر ایران، شیوع بالایی از آلودگی به HCV را نشان می دهد [۲، ۸]. به گونه ای که محققین شیوع این عفونت را در مبتلایان به تالاسمی، از ۶۲٪ تا ۲۳٪ مبتلا نموده اند [۲، ۹]. از سویی دیگر نتایج این مطالعه نشان می دهد که شیوع OBI در بیماران تالاسمی آلوده به HCV استان کرمان بسیار پایین می باشد. مطالعات بر روی بیماران دیالیزی نیز نتایج مشابهی در بر داشت [۵]. جستجو در مجلات برای پیدا کردن مقالاتی مبنی بر بررسی شیوع OBI در بیماران تالاسمی آلوده به HCV نتیجه ای در بر نداشت و می توان گفت شاید مطالعه حاضر اولین

به HBV نسبت به میزان HCV-RNA در افراد آلوده به HCV به مراتب پایین‌تر می‌باشد [۲] و شاید این خود دلیلی دیگر بر بالاتر بودن شیوع آلودگی به HCV در این دسته افراد باشد.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که نمونه‌های خون بایستی با دقت بیشتری از نظر آلودگی به HCV و با آزمایش‌های به مراتب حساستری مثل RT-PCR از طرف سازمان انتقال خون مورد بررسی قرار بگیرند تا خون و فرآورده‌های سالمتری در اختیار بیماران علی‌رغم واکسیناسیون علیه هپاتیت B، دارای سطح خوبی از آنتی‌بادی بر علیه HBsAg نبودند، می‌توان به این نکته دست یافت که این دسته بیماران نسبت به این واکسن بی‌پاسخ (non-responder) می‌باشند و بالطبع بررسی این دسته از بیماران پس از واکسیناسیون از نظر میزان آنتی‌بادی تولیدی می‌تواند بسیار کمک‌کننده باشد.

تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان این مقاله بدین‌وسیله از کارکنان محترم بنیاد خیریه ثامن‌الحجج کرمان و کارکنان محترم مرکز دیالیز بیمارستان علی‌بن‌ابطال (ع) رفسنجان که در انجام این طرح همکاری کردند و همچنین تمامی بیمارانی که بدون هیچ چشم‌داشتشی اقدام به اهدای خون نمودند کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند.

مطالعات نشان می‌دهند که شیوع بالای از این شکل عفونت در اهداکنندگان خون وجود دارد [۳-۴]. حال این سوال پیش می‌آید که با توجه به شیوع بالای OBI در اهداکنندگان خون، چرا این شکل از عفونت در بیماران تالاسمی آلوده به HCV بسیار پایین می‌باشد؟ در جواب می‌توان چندین علت را ذکر کرد: ۱. وجود عفونت HCV به طور هم زمان، منجر به کاهش شدید بیان پروتئین‌های HBV و خاموشی کامل این ویروس در داخل بدن می‌شود ۲. در طی OBI میزان HBV-DNA در سرم بیماران بسیار متغیر می‌باشد به طوری که در بعضی مواقع تست PCR مثبت و بعضی مواقع منفی می‌شود [۳]. از طرفی با توجه به این که تمامی بیماران با واکسن HBsAg بر علیه هپاتیت B واکسینه شده بودند می‌توان دلیل دیگر منفی شدن آزمایش HBV-DNA PCR در این افراد را واکسینه بودن بیماران دانست.

نتایج این تحقیق هم‌چنین نشان داد که اکثر بیماران آلوده به HCV دارای رقت قابل قبولی از anti-HBs نبودند. این امر نشان می‌دهد که سیستم ایمنی این افراد قادر به پاسخ‌گویی مناسب به واکسن هپاتیت B نبوده است و شاید همین نقص در سیستم ایمنی همورال این افراد باعث شده که به هپاتیت C نیز آلوده شوند. اما در جواب این سوال که با وجود تیتر پایین anti-HBs چرا این افراد آلوده به HBV نشده‌اند نیز می‌توان به توضیحات بالا اشاره کرد و هم‌چنین می‌توان ذکر نمود که به طور کلی میزان HBV-DNA موجود در خون محیطی در افراد آلوده میزان HCV موجود در خون محیطی در افراد آلوده

References

- [1] Chakrabarti S, Pradhan P, Roy A, Hira M, Bandyopadhyay G, Bhattacharya DK. Prevalence of anti HCV, HBsAg and HIV antibodies in high risk recipients of blood and blood products. *Indian J Public Health* 2006; 50(1): 43-4.
- [2] Mirmomen S, Alavian SM, Hajarizadeh B, Kafaee J, YektaParast B, Zahedi MJ, et al. Epidemiology of hepatitis B, hepatitis C, and human immunodeficiency virus infections in patients with beta-thalassemia in Iran: a multicenter study. *Arch Iran Med* 2006; 9(4): 319-23.
- [3] Arababadi MK, Pourfathollah AA, Jafarzadeh A, Hassanshahi G, Mohit M, Hajghani M, et al. Evaluation of expression rate of chemokines receptor CCR5 on peripheral blood CD8+ T cells of occult hepatitis B infected patients. *J Mazand Univ Med Sci* 2009; 18 (68): 11-8. [Farsi]
- [4] Pourazar A, Salehi M, Jafarzadeh A, Arababadi MK, Oreizi F, Shariatinezhad K. Detection of HBV DNA in HBsAg Negative Normal Blood Donors. *IJI* 2005; 2 (3): 172-6.
- [5] Arababadi MK, Hassanshahi G, Yousefi H. HBV-DNA in hemodialysis patients infected by HCV. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2009; 20(3): 398-401.
- [6] Hu KQ. Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications. *J Viral Hepat* 2002; 9(4): 243-57.
- [7] Chakravarti A, Verma V, Kumaria R, Dubey AP. Anti-HCV seropositivity among multiple transfused patients with beta thalassaemia. *J Indian Med Assoc* 2005; 103(2): 64-6.
- [8] Hassanshahi G, Arababadi MK, Zarandi ER, Moradi M, Vazirinegad R, Daredor YH, et al. Prevalence of HCV infection in thalassemic and hemodialysis patients in Kerman province-Iran. *J Iran spec Epidem* 2009; 5 (1): 1-6.
- [9] Ansar MM, Kooloobandi A. Prevalence of hepatitis C virus infection in thalassemia and haemodialysis patients in north Iran-Rasht. *J Viral Hepat* 2002; 9(5): 390-2.
- [10] Matsuzaki Y, Chiba T, Hadama T, Asaoka H, Doy M, Shoda J, et al. HBV genome integration and genetic instability in HBsAg-

- negative and anti-HCV-positive hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer J Lett* 1997; 119(1): 53-61.
- [11] Branco F, Mattos AA, Coral GP, Vanderborgh B, Santos DE, Franca P, et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic liver disease due to hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma in Brazil. *Arq Gastroenterol* 2007; 44(1): 58-63.
- [12] Liu Z, Hou J. Hepatitis B virus (HBV) and hepatitis C virus (HCV) dual infection. *Int J Med Sci* 2006; 3(2): 57-62.

Evaluation of Occult Hepatitis B Virus Infection in Thalassemic Patients Infected by HCV in Kerman Province of Iran

M. Kazemi Arababadi¹, Gh. Hassanshahi², M. Rezaeian³, E. Rezazadeh Zarandi⁴, R. Vazirinejad⁵

Received: 03/01/09

Sent for Revision: 08/03/09

Received Revised Manuscript: 31/10/09

Accepted: 20/12/09

Background and Objectives: Thalassemic patients are at risk of blood transmitted infectious diseases such as hepatitis B and C, due to continued receiving of blood and its components. The aim of this study was to investigate the prevalence of occult Hepatitis B Virus infection (OBI) and HBV markers in thalassemic patients with Hepatitis C infection.

Materials and Methods: In this cross-sectional study, 60 thalassemic patients were examined for HCV infection by Reverse Transcription-PCR (RT-PCR) during Apr-Sep 2007 in the Kerman province of Iran. Hepatitis B virus infection was evaluated in the HCV positive thalassemic patients by PCR. Anti-HBc, anti-HBs and HBsAg were detected using ELISA.

Results: Results indicated that although 27 (45%) of the cases, out of 60, were infected by HCV, but HBV-DNA was not detected in the HCV infected patients. The findings also showed that 9 (33%) out of 27 HCV-RNA positive patients were anti-HBc positive and 11 (40.7%) out of 27 patients were positive for anti-HBs.

Conclusion: Results of this study indicated that the prevalence of OBI was very low in thalassemic patients (in contrast to HCV infection). However, this value is probably due to the inhibitory effects of HCV on host cell translation system which affects HBV protein translation.

Key words: Hepatitis B, Hepatitis C, Hepatitis C Virus, Hepatitis B Virus, Occult Hepatitis B Infection, Thalassemia

Funding: This research was funded by Rafsanjan University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethical Committee of Rafsanjan University of Medical Sciences approved the study.

1- Instructor, Dept. of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

(Corresponding Author) Tel: (0391)5234003, Fax: (0391) 5225209, E-mail: kazemi24@yahoo.com

2- Assistant Prof., Dept. of Hematology, Faculty of Medicine, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

3- Associate Prof., Dept. of Social Medicine, Faculty of Medicine, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

4- Instructor, Dept. of Microbiology, Faculty of Medicine, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

5- Associate Prof., Dept. of Social Medicine, Faculty of Medicine, University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran