



## Bumetanide-related effect on attention to face parts in children and adolescents with autism spectrum disorder using the eye tracking algorithm

Ahmad Delrobaee<sup>1</sup>, Mehdi Tehrani-Doost<sup>2,3\*</sup> , Mohammadtaghi Joghataei<sup>4</sup>, Katayoon Razjouyan<sup>5</sup>, Anahita Khorrami Benaraki<sup>6</sup>, Raheleh Mollajani<sup>7</sup>

1. MD, PhD Candidate in Cognitive Neuroscience, Institute for Cognitive Science Studies, Tehran, Iran
2. Professor of Child and Adolescent Psychiatry and Cognitive Neuroscience, Research Center for Cognitive and Behavioral Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Professor of Child and Adolescent Psychiatry and Cognitive Neuroscience, Institute for Cognitive Science Studies, Tehran Iran
4. Professor of Neuroanatomy and Neuroscience, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5. Associate Professor of Child and Adolescent Psychiatry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Department of Psychiatry, Imam Hossein Hospital, Tehran, Iran
6. MD, PhD in Cognitive Neurosciences, Brain & Cognition Clinic, Tehran, Iran
7. PhD Student of Cognitive Neuroscience, Institute for Cognitive Science Studies, Tehran, Iran

### Abstract

**Introduction:** Autism Spectrum Disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder characterized by impairment in social communication and repetitive and stereotyped behaviors. It has been shown that a diuretic drug named bumetanide had a considerable influence on improving social communication in these patients. One of the important features in making social communication is eye contact; this research aimed to evaluate the efficacy of this medication on improving pattern of eye contact and the other parts of the face in children and adolescents with ASD.

**Methods:** This single group clinical trial research is conducted on 20 children and adolescents aged from 7 to 15 years old with high function Autism Spectrum Disorder. After discontinuing the previously taking medications, Childhood Autism Rating Scale (CARS), Kiddie- Schedule for Affective and Schizophrenia (KSADS), Wechsler Intelligence Scale for Social Responsiveness Scale (SRS), and Children-Revised Form (WISC-R) were administered to each participant. A dose of 1 mg Bumetanide (0.5 mg in the morning and 0.5 mg in the evening) during 90 Days was given to the participants. Eye tracking evaluation administered while the participants were looking at the pictures of faces before and after the intervention. The number and duration of fixation to each area in each image as the variables recorded.

**Results:** A comparison of pre and post-intervention showed no significant differences in terms of the eye tracking variables.

**Conclusion:** Using Bumetanide did not have any significant effect on the amount of looking at the eyes in children and adolescents with ASD, despite improved symptoms and severity of autism and some behavioral problems.

**Received:** 14 Feb. 2018

**Revised:** 22 May 2019

**Accepted:** 11 Jun. 2019

#### Keywords

Bumetanide  
Autism spectrum disorder  
Eye contact  
Eye tracking  
Face

#### Corresponding author

Mehdi Tehrani-Doost, Professor of Child and Adolescent Psychiatry and Cognitive Neuroscience, Research Center for Cognitive and Behavioral Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Roozbeh Hospital, Tehran, Iran

**Email:** Tehranid@sina.tums.ac.ir



doi.org/10.30699/icss.21.4.84

**Citation:** Delrobaee A, Tehrani-Doost M, Joghataei M, Razjouyan K, Khorrami Benaraki A, Mollajani R. Bumetanide-related effect on attention to face parts in children and adolescents with autism spectrum disorder using the eye tracking algorithm. *Advances in Cognitive Sciences*. 2020;21(4):84-93.



## بررسی تأثیر داروی بومتاناید بر میزان توجه به اجزای چهره در کودکان و نوجوانان با اختلال طیف اوتیسم با استفاده از سیستم ردیاب چشمی

احمد دلربایی<sup>۱</sup>، مهدی تهرانی دوست<sup>۲،۳\*</sup>، محمد تقی جغتایی<sup>۴</sup>، کنایون رازجویان<sup>۵</sup>، آناهیتا خرمی بنارکی<sup>۶</sup>، راحله ملاجانی<sup>۷</sup>

۱. دانشجوی دکتری تخصصی علوم اعصاب شناختی، موسسه آموزش عالی علوم شناختی، تهران، ایران
۲. استاد روان‌پزشکی کودک و نوجوان و علوم اعصاب شناختی، مرکز تحقیقات علوم شناختی و رفتاری، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۳. استاد روان‌پزشکی کودک و نوجوان و علوم اعصاب شناختی، موسسه آموزش عالی علوم شناختی، تهران، ایران
۴. استاد نورواناتومی و علوم اعصاب شناختی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۵. دانشیار روان‌پزشکی کودک و نوجوان، دپارتمان روان‌پزشکی، بیمارستان امام حسین، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۶. دکتری تخصصی علوم اعصاب شناختی، کلینیک مغز و شناخت، تهران، ایران
۷. دانشجوی دکتری تخصصی علوم اعصاب شناختی، موسسه آموزش عالی علوم شناختی، تهران، ایران

### چکیده

**مقدمه:** اختلال طیف اوتیسم، یک اختلال عصبی رشدی است که با نقص در ارتباطات اجتماعی و الگوهای رفتاری کلیشه‌ای مشخص می‌شود. نشان داده شده است که دارویی دیورتیک به نام بومتاناید، تأثیر قابل توجهی را در بهبود ارتباط اجتماعی در این بیماران داشته است. نظر به اینکه یکی از شاخص‌های مهم در برقراری روابط اجتماعی، تماس چشمی می‌باشد، هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر این دارو بر تصحیح الگوی نگاه به چشم و دیگر اجزای صورت در کودکان و نوجوانان مبتلا به اختلال اوتیسم بود.

**روش کار:** مطالعه حاضر یک کارآزمایی بالینی تک گروهی به صورت یک سو کور بود. شرکت‌کنندگان شامل ۲۰ کودک ۷ تا ۱۵ سال مبتلا به اختلال طیف اوتیسم با عملکرد بالا بود. بعد از قطع داروهای قبلی آزمون‌های مقیاس درجه‌بندی اوتیسم دوران کودکی (CARS)، مصاحبه تشخیصی نیمه ساختاریافته (KSADS)، معیار پاسخ‌دهی اجتماعی (SRS)، مقیاس تجدیدنظر شده هوشی برای کودکان (WISC-R) برای هر شرکت‌کننده انجام شد. مداخله دارویی روزی یک میلی‌گرم قرص بومتاناید به صورت نیم میلی‌گرم صبح و عصر به مدت نود روز انجام شد. تست ردیاب چشمی هنگام نگاه شرکت‌کنندگان به تصاویر چهره قبل و بعد از مداخله انجام شد. متغیرهای تعداد و زمان نگاه به هر منطقه در هر تصویر ثبت گردید.

**یافته‌ها:** مقایسه قبل و بعد از مداخله تعداد نگاه به چشم برای هر بیمار برای هر تصویر و زمان نگاه به چشم برای هر بیمار برای هر تصویر تفاوت معناداری را نشان نداد ( $P > 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** مصرف داروی بومتاناید بر روی میزان نگاه به چشم در کودکان اوتیستیک اثر معناداری نداشته گرچه علائم و شدت اوتیسم و برخی مشکلات رفتاری را بهبود داده است.

دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۵

اصلاح نهایی: ۱۳۹۸/۰۳/۰۱

پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۱

### واژه‌های کلیدی

بومتاناید  
اختلال طیف اوتیسم  
ارتباط چشمی  
ردیاب چشمی  
چهره

### نویسنده مسئول

مهدی تهرانی دوست، استاد روان‌پزشکی کودک و نوجوان و علوم اعصاب شناختی، مرکز تحقیقات علوم شناختی و رفتاری، دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان روزبه، تهران، ایران

ایمیل: Tehranid@sina.tums.ac.ir



doi.org/10.30699/ics.21.4.84

### مقدمه

از شاخص‌ترین ویژگی‌ها در افراد با اختلال طیف اوتیسم، نقص در برقراری ارتباط چشمی است. این کودکان به گونه‌ای متفاوت از کودکان عادی به تصویر چهره می‌نگرند و توانایی کسب اطلاعات از چهره در تعاملات را ندارند، بنابراین در روابط ناکارآمد و در اجتماع گوشه‌گیر می‌شوند (۳). ارتباط چشمی مناسب از مهم‌ترین پیش‌نیازهای کسب

اوتیسم یک اختلال تکاملی عصبی فراگیری است که با ناتوانی در اختلالات ارتباطی، رفتارهای تکراری و علایق محدود همراه می‌باشد، مرکز کنترل و پیشگیری بیماری آمریکا شیوع ابتلا به اختلال طیف اوتیسم را یک در هر ۵۹ کودک (۱) و سازمان بهداشت جهانی ابتلا به این اختلال را یک در هر ۱۶۰ کودک اعلام نموده‌اند (۲). یکی

سلولی موجب تقویت عملکرد مهاری گابا و ایجاد تعادل تحریکی-مهاری آن می‌گردد (۳۰). مطالعات نشان دادند که مصرف بوم‌تاناید به طور قابل توجهی شدت علائم اوتیسم و آسپرگر را با اثرات جانبی کم، کاهش می‌دهد (۲۹، ۳۱). در یک مطالعه، بوم‌تاناید دقت در شناسایی چهره‌های هیجانی را را بهبود بخشید و فعالیت مغزی را در مناطق درگیر در درک اجتماعی و هیجانی افزایش داد (۱۲). این مطالعه نشان داد که بازشناسی چهره‌های هیجانی و فعالیت مناطق مغزی درگیر در این بازشناسی که قبلاً فعال نبودند، در هفت کودک آسپرگر، بعد از درمان بهبود یافت. نتایج نشان دادند که بوم‌تاناید، شدت علائم را کاهش داده و تعامل آنها را با محیط افزایش می‌دهد (۱۲).

همان‌طور که گفته شد، ارتباط چشمی بیماران اوتیستیک با افراد معمولی متفاوت است و بیشتر به لب و دهان افراد به جای چشم، نگاه می‌کنند و ارتباط چشمی ضعیف‌تری نسبت به افراد سالم دارند (۳). با توجه به اینکه نشان داده شده است که داروی بوم‌تاناید در بهبود روابط اجتماعی و شناسایی هیجان چهره در مبتلایان به اختلال طیف اوتیسم موثر بوده است، در این مطالعه به دنبال این هستیم که نشان دهیم آیا مداخله دارویی با این دارو می‌تواند این الگوی متفاوت و غیرمعمول ارتباط چشمی را بهبود بخشد؟

### روش کار

مطالعه حاضر یک کارآزمایی بالینی تک گروهی به صورت یک سو کور بود. شرکت‌کنندگان شامل ۲۰ کودک ۷ تا ۱۵ سال مبتلا به اختلال طیف اوتیسم با عملکرد بالا بودند که با تشخیص روان‌پزشک کودک و نوجوان و بر مبنای راهنمای تشخیصی و آماری اختلالات روانی، چاپ پنجم (DSM-5) (۳۲)، از کلینیک‌های تخصصی روان‌پزشکی کودک و نوجوان انتخاب شدند. در این مطالعه از آزمون‌های مقیاس درجه‌بندی اوتیسم دوران کودکی (CARS)، مصاحبه تشخیصی نیمه ساختاریافته (KSADS)، معیار پاسخ‌دهی اجتماعی (SRS)، مقیاس تجدیدنظر شده هوشی برای کودکان (WISC-R) استفاده شد. ارزیابی‌های SRS، CARS و تست ردیاب چشمی به صورت پیش‌آزمون و پس‌آزمون انجام شد. تسک ردیاب چشمی به صورت دو بلوک چهل تصویری از تصاویر چهره خنثی با تعریف مناطق چشم و لب و فضای اطراف ارائه گردید.

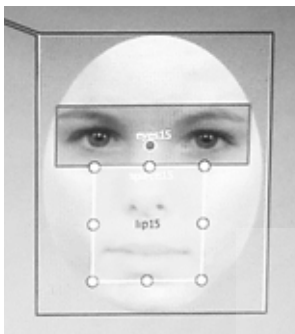
**مقیاس درجه‌بندی اوتیسم دوران کودکی (Autism Rating Scale Childhood):** این پرسشنامه دارای یک مقیاس درجه‌بندی ۱ تا ۱۵ در مورد کارکردهای مختلف افراد اوتیستیک می‌باشد که متغیرهای مختلف رفتاری نظیر برقراری ارتباط با مردم، تقلید، ارتباطات غیرکلامی، مقدار فعالیت و غیره را مورد سنجش قرار می‌دهد (۳۳).

مهارت‌های اجتماعی است. همچنین در مطالعات مختلف نشان داده شده است که افراد مبتلا به طیف اوتیسم در پردازش اطلاعات اجتماعی و هیجانی دچار نقص و آسیب می‌باشند. این امر به ویژه در انجام فعالیت‌های مربوط به ارزیابی چهره و بازشناسی هیجانی آن، تقلید از حرکات بدن، تفسیر و به کار بردن ژست‌های حرکتی، و تئوری ذهن مشهود است (۴).

در حال حاضر هیچ درمان دارویی قطعی برای کاهش علائم اختلال طیف اوتیسم به ویژه علائم مربوط به شناخت اجتماعی و هیجانی وجود ندارد (۵). در سطح سلولی و مولکولی در اختلال طیف اوتیسم پیام‌رسانی سیستم گاباژیک تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد و منجر به عدم تعادل بین تحریک و مهار نورونی می‌شود (۶-۹). در افراد مبتلا به این اختلال، سیگنالینگ گابا که توسط نورون‌های گاباژیک تولید می‌شوند و در عملکردهای شناختی سطح بالا کاربردی می‌باشند، کاهش می‌یابند (۹-۱۱). جالب توجه است که بنزودیازپین‌ها که موجب تقویت ویژگی مهاری گابا می‌شوند، عملکرد متناقضی را در کودکان مبتلا به اوتیسم نشان داده و موجب افزایش تحریک و سایر علائم می‌شوند (۱۲، ۱۳). نشان داده شده است که این واکنش متناقض، از غلظت بالای کلرید داخل سلولی ( $[Cl^-]$ ) ناشی می‌شود که قطبیت گابا را از مهاری به تحریکی تغییر می‌دهد (۱۳، ۱۴). گاما آمینوبوتیریک اسید، انتقال‌دهنده‌ای مهاری است و بر روی کانال گیرنده‌ای عمل می‌کند که به طور عمده نسبت به آنیون‌های کلرید که کاهش‌دهنده تحریک‌پذیری عصبی هستند نفوذپذیر می‌باشد (۱۵-۱۸). مطالعه گابا در دوران رشد، موجب کشف غلظت بالای کلر در سلول‌های عصبی نابالغ شده است که منجر به اعمال تحریکی گابا در این سلول‌ها می‌شود (۱۹). کاهش تدریجی غلظت کلر نشان می‌دهد که تغییر دپلاریزه به هایپرپلاریزه که مرتبط با جابجایی تحریک با مهار می‌باشد در طول تکامل محفوظ مانده است و راه حلی را برای مشکل عمده رشد فراهم می‌کند (۲۰). عمل تحریکی گابا بستگی به سطح بالای کلر داخل سلولی و تنظیم دپلاریزاسیون غشاء دارد (۲۱). سطح کلراید داخل سلولی در درجه اول توسط دو کوترانسپورتر کلراید کنترل می‌شود: واردکننده کلر NKCC1 و خارج‌کننده کلر KCC2 (۲۲-۲۴). در نوزادان، کلر از طریق کوترانسپورتر NKCC1 تجمع می‌یابد (۲۵، ۲۶) که کاملاً به داروی دیورتیک بوم‌تاناید حساس است (۲۷، ۲۸).

بوم‌تاناید یک داروی دیورتیک است، که در درمان فشار خون بالا، دیسپلازی برونکوپنومونی و سندرم نفروتیک استفاده می‌شود؛ این دارو یک آنتاگونیست خاص NKCC1 با گرایش بالا می‌باشد که موجب کاهش غلظت کلر داخل سلولی می‌شود (۲۹). کاهش غلظت کلر درون

مدت ۱۰۰۰ میلی ثانیه صفحه کاملاً خاکستری با یک علامت بعلاوه (+) سفید در وسط آن، تصاویر چهره‌ها را از هم جدا می‌کند. محدوده نگاه هر فرد به هر تصویر به سه منطقه مورد نظر (AOI) به نام‌های چشم، لب و فضا تقسیم شد. طبق تصویر شماره ۱ منطقه چشم توسط یک مستطیل شامل بالای ابروها تا زیر هر دو چشم و دو طرف کناره‌های چشم انتخاب شد. منطقه لب توسط یک مستطیل از بالای بینی تا زیر لب و تا کناره‌های لب محدود شد. منطقه فضا هم تمام منطقه تصویر بغیر از دو منطقه چشم و لب را شامل می‌شد.



تصویر ۱. مناطق مورد نظر (AOI) شامل سه منطقه چشم، لب و فضا

در این مدت دستگاه به ثبت دقیق این موارد در هر تصویر می‌پردازد: تعداد نگاه به هر منطقه، زمان نگاه به هر منطقه، تعداد و زمان کل نگاه‌ها در هر تصویر. با استفاده از اطلاعات ثبت شده از آزمایشات و سیستم ردیاب چشمی، متغیرهای زیر هر کدام دوبار (پیش و پس از مداخله) محاسبه و آماده تحلیل گردید:

- نمره انطباق یافته میانگین تعداد نگاه به چشم برای هر بیمار در هر تصویر (نسبت تعداد نگاه به چشم در کل تصاویر به تعداد کل نگاه‌ها)
- نمره انطباق یافته میانگین زمان نگاه به چشم برای هر بیمار در هر تصویر (نسبت زمان نگاه به چشم در کل تصاویر به کل زمان ارائه تصویرها)
- نمره انطباق یافته میانگین تعداد نگاه به لب برای هر بیمار در هر تصویر (نسبت تعداد نگاه به لب در کل تصاویر به تعداد کل نگاه‌ها)
- نمره انطباق یافته میانگین زمان نگاه به لب برای هر بیمار در هر تصویر (نسبت زمان نگاه به لب در کل تصاویر به کل زمان ارائه تصویرها)
- عدد خام تعداد نگاه به چشم برای هر تصویر برای هر فرد (مجموع تعداد نگاه به چشم هر فرد در کل تصاویر تقسیم بر ۸۰)
- عدد خام تعداد نگاه به لب برای هر تصویر برای هر فرد (مجموع تعداد نگاه به لب هر فرد در کل تصاویر تقسیم بر ۸۰)
- عدد خام زمان نگاه به چشم برای هر تصویر برای هر فرد (مجموع زمان نگاه به چشم هر فرد در کل تصاویر تقسیم بر ۸۰)
- عدد خام زمان نگاه به لب برای هر تصویر برای هر فرد (مجموع زمان

مصاحبه تشخیصی نیمه ساختاریافته (and Schizophrenia Kiddie-Schedule for Affective): یک مصاحبه بالینی نیمه ساختاریافته که برای ارزیابی دوره‌های فعلی و قبلی علائم و اختلالات روان‌پزشکی کودکان و نوجوانان به صورت مصاحبه با والدین، کودک و در نهایت به دست آوردن خلاصه‌ای از نمره گذاری‌ها می‌باشد (۳۴). نسخه فارسی این پرسشنامه جهت استفاده در درمانگاه‌های بالینی و مطالعات تحقیقاتی توسط شه‌ریور و همکاران اعتباریابی شده است (۳۵).

مقیاس تجدیدنظر شده هوشی و کسلر برای کودکان (WISC-R): این مقیاس دارای ۱۲ خرده آزمون می‌باشد که ۲ آزمون آن جنبه ذخیره دارد. ۶ آزمون کلامی و ۶ آزمون غیر کلامی (عملی) است. این آزمون موقعیت نسبی شخص را در مقایسه با همسالانش به دست می‌دهد و یک برآورد کلی از توانایی‌های ذهنی او در اختیار می‌گذارد (۳۶).

معیار پاسخ‌دهی اجتماعی (Social Responsiveness Scale): این پرسشنامه برای ارزیابی وجود آسیب در رفتارهای اجتماعی متقابل است که می‌تواند توسط والدین، معلمان یا مراقبین تکمیل گردد و دارای ۶۵ آیت می‌باشد که شدت رفتار در هر بخش از خفیف تا شدید ارزیابی می‌شود و از طریق نمره کلی و نمرات ۵ خرده مقیاس محاسبه می‌گردد (۳۷). نسخه فارسی این پرسشنامه جهت استفاده در درمانگاه‌های بالینی و مطالعات تحقیقاتی توسط تهرانی دوست و همکاران اعتباریابی شده است (۳۸).

سیستم ردیاب چشمی (Eye Track): در این پژوهش جهت ردیابی حرکات چشم، از دستگاه ردیاب چشمی شصت هرتز شرکت SMI استفاده شد. این دستگاه در تحقیقات رفتاری، بررسی حرکات چشم، سرعت حرکت و وضعیت مردمک به کار می‌رود و با نوار ردیابی مستطیلی شکلی که زیر صفحه نمایش‌گر وصل می‌شود، ردیابی مسیر حرکت مردمک چشم‌ها را انجام می‌دهد.

تسک سیستم ردیابی چشمی: برای انجام آزمایش، دو بلوک تصویری شامل مجموعاً ۳۰ تصویر سیاه و سفید از چهره ده نفر (پنج زن و پنج مرد) با حالت کاملاً خنثی که از مجموعه تصاویر رَدبود (Rad Boud) انتخاب شده‌اند، تهیه شد. به علت طولانی شدن تست و عدم تحمل کودک اوتیستیک جهت نشستن پشت دستگاه و تمرکز بر انجام تست، دو بلوک انتخاب شد تا بین آنها کودک استراحت نماید و بتواند تست را کامل انجام داده و آن را تحمل نماید. این ده تصویر چهره، هر کدام چهار بار و به صورت تصادفی تکرار شده که در یک بلوک قرار داده شده‌اند. آزمایش با نشان دادن دو بلوک چهل تصویری یکسان که بین هر بلوک دو دقیقه استراحت داده می‌شد، انجام گرفت. هر کدام از تصاویر به مدت ۳۰۰۰ میلی ثانیه نشان داده می‌شد و بین هر تصویر به

IR.IUMS.REC.1395.4537 و مدت اعتبار سه سال از کمیته اخلاق معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران اخذ شد.

### یافته‌ها

شرکت کنندگان در این مطالعه شامل ۲۰ نفر کودک و نوجوان مبتلا به اختلال طیف اوتیسم (اوتیسم و آسپرگر) با بازه سنی ۷ تا ۱۵ سال با میانگین سنی  $11/77 \pm 8/50$  و میانگین ضریب هوشی  $86/93 \pm 12/83$  بودند که در حین دوره مصرف دارو، ۵ نفر آنان به دلایل عدم همکاری والدین، عدم تحمل عوارض دارو و نیز بی‌قراری به علت قطع کردن داروهای دیگر، از مطالعه خارج شدند.

نمره کل آزمون CARS بعد از مداخله به طور معناداری کاهش یافت ( $P < 0/001$ )، ولی این تغییر برای نمره کل آزمون SRS معنادار نبود. مقایسه دو به دوی نتایج پیش و پس از مداخله میانگین تعداد نگاه به چشم، میانگین زمان نگاه به چشم، میانگین تعداد فیکسیشن به لب، میانگین زمان نگاه به لب، عدد خام تعداد نگاه به چشم، عدد خام تعداد نگاه به لب، عدد خام زمان نگاه به چشم، عدد خام زمان نگاه به لب و میانگین تعداد کل نگاه‌ها به تصاویر با استفاده از آزمون تی زوجی (Paired t-test) انجام شد. همچنین مقایسه دو به دوی پیش آزمون تعداد نگاه به چشم با پیش آزمون تعداد نگاه به لب، مقایسه پس آزمون این دو، مقایسه پیش آزمون زمان نگاه به چشم با پیش آزمون زمان نگاه به لب، مقایسه پس آزمون این دو نیز انجام شد. نتایج در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

نتایج جدول‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهد تعداد نگاه به چشم قبل و بعد از مصرف دارو اختلاف معناداری ندارد اگرچه از نظر عددی بهبود داشته است ( $P > 0/05$ ). تعداد نگاه به لب نیز قبل و بعد از مصرف دارو تفاوت معناداری ندارند ( $P > 0/05$ ). قبل از مصرف دارو بین تعداد زمان نگاه به چشم و نگاه به لب اختلاف معنادار است ولی نگاه به چشم بیشتر از نگاه به لب بوده است ( $P < 0/05$ ). هم قبل از مصرف دارو و هم بعد از مصرف دارو بین زمان نگاه به چشم و نگاه به لب اختلاف معنادار وجود دارد ولی این اختلاف به این صورت است که نگاه به چشم بیشتر از نگاه به لب بوده است ( $P < 0/05$ ).

با توجه به اینکه داروی بومتاناید با افزایش مقدار ادرار باعث دفع بیشتر پتاسیم می‌شود و اثر تغییرات پتاسیم در فعالیت قلب و عضلات بسیار مهم است، در آزمایشات قبل، وسط و پایان مداخله دارویی به صورت ویژه این متغیر، تحت پایش و نظارت بود که نتیجه مقایسه دو به دوی آن قبل و بعد از مصرف دارو در جدول ۳ گزارش شده است.

مقایسه مقدار پتاسیم سرم خون قبل و بعد از مصرف دارو در آزمون تی زوجی، تفاوت معناداری را نشان نداد ( $P > 0/05$ ).

نگاه به لب هر فرد در کل تصاویر تقسیم بر ۸۰) - میانگین تعداد کل نگاه برای هر تصویر برای هر فرد (مجموع کل تعداد نگاه‌ها به همه تصاویر تقسیم بر ۸۰) - مقدار پتاسیم سرم خون هر بیمار در دو آزمایش خون قبل و بعد مصرف دارو

**مداخله دارویی:** نمونه‌ها به مدت سه ماه، روزی دوبار ۰/۵ میلی‌گرم به صورت قرص خوراکی داروی بومتاناید دریافت کردند و بعد از نود روز دارو قطع شد. جهت پیگیری وضعیت بیمار و کنترل مشکلات احتمالی مصرف دارو، افراد شرکت‌کننده در طول دوره مصرف دارو تحت بررسی و ارزیابی‌های فشارخون وضعیتی، آلرژی، گرفتگی عضلات، ضعف و سستی، اسهال، درد عضلانی، درد مفاصل، سرگیجه و تهوع و استفراغ قرار می‌گرفتند. همچنین برای هر بیمار قبل و وسط و انتهای مصرف دارو آزمایش‌های خونی شامل آسپارات ترنس آمیناز، آلانین ترنس آمیناز، آلکالین فسفاتاز، قند خون ناشتا، اوریک اسید و کراتینین، سدیم و پتاسیم سرم خون انجام گرفت و نتایج ثبت و مورد بررسی قرار گرفت. **فرایند اجرا:** ابتدا بیماران توسط یک فوق تخصص روان‌پزشکی کودک و نوجوان مورد ارزیابی تشخیصی قرار گرفتند. افرادی که دارای معیارهای ورود بودند پس از تکمیل فرم رضایت‌نامه ورود به طرح توسط والدین آنها، وارد مطالعه شدند. سپس درمان‌های دارویی دیگر آنان به جز ملاتونین برای اختلالات خواب، با دستور روان‌پزشک متخصص به تدریج قطع گردید. معیارهای خروج شامل بهره هوشی زیر ۷۰، ناهنجاری‌های کروموزومی واضح، یا سوابق نورولوژیکی از جمله صرع و تشنج تب‌دار، سابقه آلرژی به سولفونامیدها، اختلال کبد، اختلال کلیه، و یا ناهنجاری نوار قلبی بود. سپس تست‌های ارزیابی CARS، KSADS و SRS برای هر آزمودنی انجام شد. همچنین آزمایش خون برای هر یک صورت گرفت. سپس تست ردیاب چشمی انجام شد. پس از آن مصرف دارو شروع گردید. شرکت‌کنندگان در طول مصرف دارو هر هفته به صورت تماس تلفنی و هر ماه حضوری تحت بررسی و کنترل وضعیت و مشکلات و عوارض احتمالی قرار گرفتند. در وسط زمان مصرف دارو یعنی چهل و پنج روز بعد از شروع دارو، تست‌های CARS و SRS و آزمایش خون گرفته شد و توسط روان‌پزشک کودک و نوجوان مورد ارزیابی قرار گرفتند. بعد از تکمیل سه ماه مصرف دارو، تست‌های CARS و SRS و ویزیت روان‌پزشک کودک و نوجوان انجام شد و بعد از آن مجدد آزمون ردیاب چشمی انجام گردید.

**تحلیل آماری:** داده‌ها با آزمون تی زوجی و آزمون همبستگی پیرسون به وسیله نرم‌افزار SPSS-23 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. گواهی تایید اخلاقی این طرح تحقیقاتی با کد اخلاق به شماره

جدول ۱. نتایج آزمون مقایسه t دو به دوی متغیرهای ردیاب چشمی در تست‌های پیش آزمون و پس آزمون

P	T	انحراف معیار	میانگین	مرحله	مقایسه دو به دوی متغیرها
۰/۵۵۰	-۰/۶۱۲	۰/۱۶	۰/۴۰	پیش از مداخله	مقایسه میانگین تعداد نگاه به چشم با میانگین تعداد نگاه به چشم
		۰/۱۲	۰/۴۲	پس از مداخله	
۰/۴۶۸	-۰/۷۴۷	۰/۰۹	۰/۲۳	پیش از مداخله	مقایسه میانگین تعداد نگاه به لب با میانگین تعداد نگاه به لب
		۰/۱۳	۰/۲۵	پس از مداخله	
۰/۴۰۱	-۰/۱۸۶۶	۰/۱۵	۰/۳۵	پیش از مداخله	مقایسه میانگین زمان نگاه به چشم با میانگین زمان نگاه به چشم
		۰/۱۳	۰/۳۹	پس از مداخله	
۰/۶۶۵	-۰/۴۴۲	۰/۱۱	۰/۲۰	پیش از مداخله	مقایسه میانگین زمان نگاه به لب با میانگین زمان نگاه به لب
		۰/۱۳	۰/۲۱	پس از مداخله	
۰/۴۰۱	-۰/۱۸۶۶	۴۵۶/۰۷	۱۰۶۰/۳۹	پیش از مداخله	مقایسه عدد خام زمان نگاه به چشم با عدد خام زمان نگاه به چشم
		۳۸۲/۱۹	۱۱۶۰/۲۸	پس از مداخله	
۰/۶۶۵	-۰/۴۴۲	۳۲۵/۲۴	۵۹۶/۵۱	پیش از مداخله	مقایسه عدد خام زمان نگاه به لب با عدد خام زمان نگاه به لب
		۳۷۹/۱۴	۶۲۶/۶۲	پس از مداخله	
۰/۶۰۳	۰/۵۳۳	۰/۱۸۸	۱/۸۳	پیش از مداخله	مقایسه عدد خام تعداد نگاه به چشم با عدد خام تعداد نگاه به چشم
		۰/۶۰	۱/۷۵	پس از مداخله	
۰/۹۷۶	-۰/۰۳۱	۰/۵۶	۱/۰۵	پیش از مداخله	مقایسه عدد خام تعداد نگاه به لب با عدد خام تعداد نگاه به لب
		۰/۶۵	۱/۰۵	پس از مداخله	
۰/۱۴۷	۱/۵۳۵	۰/۹۱	۴/۴۷	پیش از مداخله	مقایسه عدد خام تعداد کل نگاه‌ها با عدد خام تعداد کل نگاه‌ها
		۰/۱۸۴	۴/۲۰	پس از مداخله	

جدول ۲. نتایج مقایسه میزان نگاه به چشم و لب قبل از مداخله با هم و بعد از مداخله با هم

P	T	انحراف معیار	میانگین	مرحله	مقایسه دو به دوی متغیرها
۰/۰۰۶	۳/۲۵۰	۰/۱۶	۰/۴۰	پیش از مداخله	مقایسه میانگین تعداد نگاه به چشم با میانگین تعداد نگاه به لب
		۰/۰۹	۰/۲۳	پس از مداخله	
۰/۰۰۶	۳/۲۳۰	۰/۱۲	۰/۴۲	پس از مداخله	مقایسه میانگین تعداد نگاه به چشم با میانگین تعداد نگاه به لب
		۰/۱۳	۰/۲۵	پس از مداخله	
۰/۰۱۵	۲/۷۸۱	۰/۱۵	۰/۳۵	پیش از مداخله	مقایسه میانگین زمان نگاه به چشم با میانگین زمان نگاه به لب
		۰/۱۱	۰/۲۰	پس از مداخله	
۰/۰۱۵	۲/۷۸۱	۴۵۶/۰۷	۱۰۶۰/۳۹	پیش از مداخله	مقایسه عدد خام زمان نگاه به چشم با عدد خام زمان نگاه به لب
		۳۲۵/۲۴	۵۹۶/۵۱	پس از مداخله	
۰/۰۰۷	۳/۱۳۳	۰/۱۳	۰/۳۹	پس از مداخله	مقایسه عدد خام زمان نگاه به چشم با عدد خام زمان نگاه به لب
		۰/۱۳	۰/۲۱	پس از مداخله	
۰/۰۰۷	۳/۱۳۳	۳۸۲/۱۹	۱۱۶۰/۲۸	پس از مداخله	مقایسه میانگین زمان نگاه به چشم با میانگین زمان نگاه به لب
		۳۷۹/۱۴	۶۲۶/۶۲	پس از مداخله	
۰/۰۱۰	۲/۹۷۲	۰/۱۸۸	۱/۸۳	پیش از مداخله	مقایسه عدد خام زمان نگاه به چشم با عدد خام زمان نگاه به لب
		۰/۵۶	۱/۰۵	پس از مداخله	
۰/۰۱۵	۲/۷۷۳	۰/۶۰	۱/۷۵	پس از مداخله	مقایسه عدد خام تعداد نگاه به چشم با عدد خام تعداد نگاه به لب
		۰/۶۵	۱/۰۵	پس از مداخله	

معناداری دیده می‌شود ( $P < 0/05$ ). همچنین بعد از مصرف دارو بین میانگین زمان نگاه به چشم و نمره کل معیار پاسخدهی اجتماعی همبستگی معنادار وجود دارد ( $P < 0/05$ ).

همچنین آزمون همبستگی پیرسون بین نتایج نمره هوشی تست کلامی و کسلر و متغیرهای ردیابی چشمی انجام شد که نتایج در جدول ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در این جدول دیده می‌شود هیچ همبستگی معناداری در پیش آزمون و پس آزمون، بین نمره هوش کلامی با متغیرهای ردیابی چشمی وجود نداشته است ( $P > 0/05$ ).

بین متغیرهای تست معیار پاسخدهی اجتماعی (SRS) و متغیرهای ردیابی چشمی دو بار (قبل و بعد مصرف دارو) آزمون همبستگی پیرسون انجام گرفت که نتایج در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج جدول ۴ رابطه‌ای را قبل از مصرف دارو بین متغیرهای پاسخدهی اجتماعی و متغیرهای ردیابی چشمی نشان نداد ( $P > 0/05$ )، ولی بعد از مصرف دارو بین میانگین تعداد نگاه به چشم و نمره کل معیار پاسخدهی اجتماعی و همچنین بین میانگین تعداد نگاه به چشم و نمره ارتباطات اجتماعی معیار پاسخدهی اجتماعی، همبستگی

جدول ۳. نتایج آزمون مقایسه ۲ دو به دوی مقدار پتاسیم سرم خون قبل و بعد از مصرف دارو

مقایسه دو به دوی متغیرها	مرحله	میانگین	انحراف معیار	T	P
پتاسیم سرم خون	پیش از مداخله	۴/۳۹	۰/۲۹	۱/۱۰۳	۰/۲۹۰
	پس از مداخله	۴/۲۵	۰/۵۳		

جدول ۴. نتایج ضریب همبستگی ۲ بین متغیرهای تست معیار پاسخدهی اجتماعی و متغیرهای ردیابی چشمی

نمره کل SRS پیش از مداخله	نمره کل SRS پس از مداخله	نمره کل SRS پس از مداخله	نمره پیش از مداخله ارتباطات اجتماعی SRS	نمره پس از مداخله ارتباطات اجتماعی SRS	تعداد نگاه به چشم
-۰/۲۲۲	-۰/۶۲۰*	-۰/۶۲۰*	۰/۱۳۱	-۰/۵۳۳*	تعداد نگاه به لب
-۰/۱۰۹	۰/۱۳۸	۰/۱۳۸	-۰/۲۴۴	۰/۱۱۱	زمان نگاه به چشم
-۰/۳۷۸	-۰/۵۶۳*	-۰/۵۶۳*	-۰/۰۸۳	-۰/۳۷۴	زمان نگاه به لب
-۰/۱۷۷	۰/۱۰۹	۰/۱۰۹	-۰/۳۴۶	۰/۰۷۶	

\*  $P < 0/05$

جدول ۵. نتایج ضریب همبستگی ۲ بین نمره هوش کلامی و متغیرهای ردیابی چشمی

هوش کلامی پیش از مداخله	هوش کلامی پس از مداخله	تعداد نگاه به چشم
۰/۰۷۴	۰/۲۸۰	تعداد نگاه به لب
۰/۱۴۰	۰/۱۵۱	زمان نگاه به چشم
۰/۲۷۵	۰/۳۸۹	زمان نگاه به لب
۰/۱۹۸	۰/۲۶۹	

\*  $P < 0/05$

## بحث

این مطالعه به این منظور انجام شد که تأثیر داروی بومتاناید بر میزان توجه به اجزای صورت و نگاه و توجه به چشم در کودکان مبتلا به اوتیسم معلوم شود و اینکه چقدر این دارو می‌تواند مشکل نگاه به چشم

و توجه به صورت را در بیماران مبتلا به اوتیسم بهبود دهد. به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که نگاه به چشم در شرکت‌کنندگان مبتلا به اوتیسم مورد مطالعه، قبل و بعد مصرف دارو تفاوت معناداری ندارند.

اجتماعی همبستگی و ارتباط منفی دیده شد. با توجه به اینکه در این معیار پاسخ‌دهی اجتماعی هرچه نمره کمتر باشد وضعیت اجتماعی بیمار بهتر است، در نتیجه این همبستگی نشان می‌دهد بعد از مصرف دارو، هرچه وضعیت پاسخ‌دهی اجتماعی کودک اوتیسم بهتر شده است، تعداد و زمان نگاه به چشم هم بالاتر رفته است. همچنین بعد از درمان با دارو، همبستگی منفی بین مولفه ارتباطات اجتماعی معیار پاسخ‌دهی اجتماعی و تعداد نگاه به چشم وجود آمده است، که نشان می‌دهد بعد از مصرف دارو هرچه ارتباطات اجتماعی بیمار بهتر شده، تعداد نگاه به چشم در بیمار نیز بهتر و بالاتر رفته است.

در آزمون همبستگی پیرسون بین هوش کلامی و متغیرهای ردیابی چشمی، هیچ رابطه معناداری چه قبل از مصرف دارو چه بعد از آن دیده نشد. این امر نشان می‌دهد که میزان هوش تأثیری بر مقدار و زمان نگاه به چشم و لب ندارد و اگرچه ممکن است کودک مبتلا به اوتیسم هوش بالایی داشته باشد ولی بالا بودن آن اثری بر میزان نگاه به چشم ندارد یعنی بالا و پایین بودن هوش با میزان متغیرهای نگاه به چشم و لب ارتباطی ندارد.

محدودیت‌های این مطالعه که می‌توان به آن اشاره کرد این است که، احتمالاً نتیجه نگرفتن این دارو در بالا بردن میزان توجه به چشم، به علت کم بودن تعداد نمونه‌ها بوده است. همچنین ممکن است میزان دوز دارو یا زمان درمان کم و کوتاه بوده باشد، لذا برای مطالعه‌های بعدی، درمان طولانی‌تر با نمونه بیماران بیشتر و احتمالاً دوز بالاتر دارو پیشنهاد می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف داروی بوتاناید که بر روی سیستم گابارژتیک تأثیر دارد و می‌تواند باعث بهبود علائم اصلی اختلال طیف اوتیسم گردد ولی در این مطالعه تأثیر معناداری بر میزان نگاه به چشم در این بیماران حاصل نشد اگرچه باعث توجه بیشتری به چشم گردید. در عین حال در این مطالعه اثر جانبی خاصی به دنبال مصرف این دارو نشان داده نشد.

### تشکر و قدردانی

در پایان از ستاد توسعه علوم شناختی که این طرح تحقیقاتی را مورد حمایت قرار دادند و از پژوهشکده علوم شناختی و کلینیک مغز و شناخت و از خانم محمدزاده، خانم تاینده و خانم مهدوی که در اجرای طرح همکاری داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

در مورد لب هم میزان نگاه قبل و بعد مصرف دارو اختلاف معناداری پیدا نکرده است. زمان نگاه به چشم و لب تفاوت معناداری نداشته است اگرچه مقداری بهبود دیده شد. یعنی در مجموع دارو تأثیر معناداری بر میزان توجه و نگاه به چشم در کودکان اوتیستیک نداشته است اگرچه از نظر عددی بهبود داشته است. قبل از مصرف دارو بین تعداد و زمان نگاه به چشم و نگاه به لب اختلاف معنادار است ولی به این صورت که نگاه به چشم بیشتر از نگاه به لب بوده است. میانگین زمان نگاه به چشم و نگاه به لب هم قبل از درمان و هم بعد از درمان اختلاف معنادار دارد ولی این اختلاف به این صورت است که نگاه به چشم بیشتر و طولانی‌تر از نگاه به لب بوده است.

گرچه در مطالعه Hadjikhani و همکاران در سال ۲۰۱۸، مصرف بوتاناید باعث نگاه طولانی‌تر به چشم‌ها شده است ولی در آن مطالعه مصرف بوتاناید به جای سه ماه، ده ماه بوده است و شرکت‌کنندگان به جای ۷ تا ۱۵ سال، ۱۴ تا ۲۹ سال سن داشتند (۳۹). پس به نظر می‌رسد احتمال اینکه بوتاناید در بازه زمانی کوتاه (سه ماه) بر بهبود شدت اختلال اوتیسم و در موارد استفاده طولانی‌تر (ده ماه) بر اختلالات ارتباطی مانند توجه به چشم اثرگذار باشد، وجود دارد. ممکن است یکی از دلایلی که در این مطالعه نتیجه معناداری از مصرف دارو گرفته نشد این بوده باشد که نمونه‌های انتخاب شده، قبل از مصرف دارو نیز میزان توجه و نگاهشان به چشم بیشتر از لب بوده است و این نشان می‌دهد که قبل از درمان دارویی هم از این نظر خیلی مشکلی نداشته‌اند و ضعیف نبوده‌اند. به همین دلیل بعد از درمان دارویی علی‌رغم اینکه تغییر و بهبودی داشته‌اند ولی این تغییر معنادار نبود. با توجه به این نتایج می‌توان گفت که احتمالاً داروی بوتاناید بر روی میزان توجه به چشم واقعا اثر معناداری ندارد اگرچه علائم و شدت اوتیسم و برخی مشکلات رفتاری را بهبود داده است. این اثربخشی بر علائم اصلی اوتیسم هماهنگ با نتایج مطالعات قبلی در زمینه مصرف این دارو در بیماران مبتلا به طیف اوتیسم بوده است (۱۳، ۳۱، ۴۰).

در این مطالعه مقایسه پتاسیم سرم خون قبل و بعد مصرف دارو معنادار نبود، که نشان می‌دهد مصرف دارو مشکل خاصی در میزان پتاسیم خون بیماران ایجاد نمی‌کند و خطر هایپوکالمی آنان را تهدید نمی‌نماید و به طور کلی همانند مطالعات قبلی (۱۳، ۳۱) عوارض جدی خاصی برای این دارو گزارش نشده است. بین مولفه‌های معیار پاسخ‌دهی اجتماعی SRS و متغیرهای ردیابی چشمی مربوط به قبل از درمان با دارو، رابطه‌ای وجود نداشت ولی بعد از مصرف دارو رابطه‌ها تصحیح شد. یعنی بین تعداد و زمان فیکسیشن به چشم و نمره کل پاسخ‌دهی



## References

1. Data & Statistics on Autism Spectrum Disorder. Centers for Disease Control and Prevention Web site. <https://www.cdc.gov/ncbddd/autism/data.html>. Updated November 15, 2018. Accessed February 11, 2019.
2. Autism Spectrum Disorders. World Health Organization Web site. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/autism-spectrum-disorders>. Updated April 4, 2017. Accessed February 11, 2019.
3. Pelphrey KA, Sasson NJ, Reznick JS, Paul G, Goldman BD, Piven J. Visual scanning of faces in autism. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2002;32(4):249-261.
4. Baron-Cohen SE, Tager-Flusberg HE, Cohen DJ. Understanding other minds: Perspectives from autism. New York: Oxford University Press;1994.
5. Patin A, Hurlmann R. Social cognition. In: Katak K., Wettstein J, editors. Cognitive enhancement. Handbook of experimental pharmacology. Vol 228. Berlin:Springer, Cham;2015. pp. 271-303.
6. Chao HT, Chen H, Samaco RC, Xue M, Chahrouh M, Yoo J, et al. Dysfunction in GABA signalling mediates autism-like stereotypies and Rett syndrome phenotypes. *Nature*. 2010;468(7321):263-269.
7. Dossche D. GABA in autism and related disorders. San Diego:Elsevier Academic Press. 2005.
8. Gogolla N, LeBlanc JJ, Quast KB, Südhof TC, Fagiolini M, Hensch TK. Common circuit defect of excitatory-inhibitory balance in mouse models of autism. *Journal of Neurodevelopmental Disorders*. 2009;1(2):172-181.
9. Pizzarelli R, Cherubini E. Alterations of GABAergic signaling in autism spectrum disorders. *Neural Plasticity*. 2011;2011.
10. Brown C, Gruber T, Boucher J, Rippon G, Brock J. Gamma abnormalities during perception of illusory figures in autism. *Cortex*. 2005;41(3):364-376.
11. Lewis DA, Hashimoto T, Volk DW. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005;6(4):312-324.
12. Hadjikhani N, Zürcher NR, Rogier O, Ruest T, Hippolyte L, Ben-Ari Y, et al. Improving emotional face perception in autism with diuretic bumetanide: A proof-of-concept behavioral and functional brain imaging pilot study. *Autism*. 2015;19(2):149-157.
13. Marrosu F, Marrosu G, Rachel MG, Biggio G. Paradoxical reactions elicited by diazepam in children with classic autism. *Functional Neurology*. 1987;2(3):355-361.
14. Nardou R, Yamamoto S, Chazal G, Bhar A, Ferrand N, Dulac O, et al. Neuronal chloride accumulation and excitatory GABA underlie aggravation of neonatal epileptiform activities by phenobarbital. *Brain*. 2011;134(4):987-1002.
15. Andersen P, Eccles JC, Lynning Y. Pathway of postsynaptic inhibition in the hippocampus. *Journal of Neurophysiology*. 1964;27(4):608-619.
16. Eccles JC. The development of the cerebellum of vertebrates in relation to the control of movement. *Naturwissenschaften*. 1969;56(11):525-534.
17. Ito M. The molecular organization of cerebellar long-term depression. *Nature Reviews Neuroscience*. 2002;3(11):896-902.
18. Roberts E. Failure of GABAergic inhibition: A key to local and global seizures. *Advances in Neurology*. 1986;44:319-341.
19. Ben-Ari Y, Holmes GL. The multiple facets of  $\gamma$ -aminobutyric acid dysfunction in epilepsy. *Current Opinion in Neurology*. 2005;18(2):141-145.
20. Ben-Ari Y, Gaiarsa JL, Tyzio R, Khazipov R. GABA: A pioneer transmitter that excites immature neurons and generates primitive oscillations. *Physiological Reviews*. 2007;87(4):1215-1284.
21. Staley K, Smith R, Schaack J, Wilcox C, Jentsch TJ. Alteration of GABA<sub>A</sub> receptor function following gene transfer of the CLC-2 chloride channel. *Neuron*. 1996;17(3):543-551.
22. Cohen I, Navarro V, Clemenceau S, Baulac M, Miles R. On the origin of interictal activity in human temporal lobe epilepsy in vitro. *Science*. 2002;298(5597):1418-1421.
23. Rivera C, Voipio J, Payne JA, Ruusuvuori E, Lahtinen H, Lamsa K, et al. The  $K_{Cl}$  cotransporter KCC2 renders

- GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature*. 1999;397(6716):251-255.
24. Delpire E. Cation-chloride cotransporters in neuronal communication. *Physiology*. 2000;15(6):309-312.
25. Payne JA, Rivera C, Voipio J, Kaila K. Cation-chloride co-transporters in neuronal communication, development and trauma. *Trends in Neurosciences*. 2003;26(4):199-206.
26. Yamada J, Okabe A, Toyoda H, Kilb W, Luhmann HJ, Fukuda A. Cl<sup>-</sup> uptake promoting depolarizing GABA actions in immature rat neocortical neurones is mediated by NKCC1. *The Journal of Physiology*. 2004;557(3):829-841.
27. Hannaert P, Alvarez-Guerra M, Pirot D, Nazaret C, Garay R. Rat NKCC2/NKCC1 cotransporter selectivity for loop diuretic drugs. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2002;365(3):193-199.
28. Isenring P, Jacoby SC, Payne JA, Forbush B. Comparison of Na-K-Cl cotransporters. NKCC1, NKCC2, and the HEK cell Na-L-Cl cotransporter. *The Journal of Biological Chemistry*. 1998;273(18):11295-11301.
29. Lemonnier É, Degrez C, Phelep M, Tyzio R, Josse F, Grandgeorge M, et al. A randomised controlled trial of bumetanide in the treatment of autism in children. *Translational Psychiatry*. 2012;2(12):e202.
30. Dzhala VI, Talos DM, Sdrulla DA, Brumback AC, Mathews GC, Benke TA, et al. NKCC1 transporter facilitates seizures in the developing brain. *Nature Medicine*. 2005;11(11):1205-1213.
31. Lemonnier E, Ben-Ari Y. The diuretic bumetanide decreases autistic behaviour in five infants treated during 3 months with no side effects. *Acta Paediatrica*. 2010;99(12):1885-1888.
32. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5th Edition:DSM-5®. Arlington, VA:American Psychiatric Pub;2013.
33. Schopler E, Reichler RJ, DeVellis RF, Daly K. Toward objective classification of childhood autism: Childhood Autism Rating Scale (CARS). *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 1980;10(1):91-103.
34. Kaufman J, Birmaher B, Brent D, Rao UM, Flynn C, Moreci P, Williamson D, Ryan N. Schedule for affective disorders and schizophrenia for school-age children-present and lifetime version (K-SADS-PL): Initial reliability and validity data. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 1997;36(7):980-988.
35. Shahrivar Z, Kousha M, Moallemi S, Tehrani-Doost M, Alagband-Rad J. The reliability and validity of kiddie-schedule for affective disorders and schizophrenia-present and life-time version-Persian version. *Child and Adolescent Mental Health*. 2010;15(2):97-102.
36. Wechsler D. Wechsler Intelligence Scale for Children. Wechsler Intelligence Scale for Children. San Antonio, TX:- Psychological Corporation;1949.
37. Pine E, Luby J, Abbacchi A, Constantino JN. Quantitative assessment of autistic symptomatology in preschoolers. *Autism*. 2006;10(4):344-352.
38. Tehrani-Doost M, Shahrivar Z, Torabi N, Ansari S, Haji-Esmaelzadeh M, Saeed-Ahmadi S. Cross-cultural validation and normative data of the Social Responsiveness Scale in a group of Iranian general child population. *Journal of Autism and Developmental Disorders*. 2018:1-8.
39. Hadjikhani N, Johnels JÅ, Lassalle A, Zürcher NR, Hippolyte L, Gillberg C, et al. Bumetanide for autism: More eye contact, less amygdala activation. *Scientific Reports*. 2018;26;8(1):1-8.
40. Du L, Shan L, Wang B, Li H, Xu Z, Staal WG, Jia F. A pilot study on the combination of applied behavior analysis and bumetanide treatment for children with autism. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*. 2015;25(7):585-588.