

ارزیابی کیفیت فرآورده‌های پلاکتی آذربایجان شرقی و مقایسه میزان تغییرات آن در پایگاه و مرکز درمانی طی دوران نگهداری

رضا یعقوبی^۱، کریم شمس اسنجان^۲، غریب کریمی^۳، مریم زادسر^۴

چکیده

سابقه و هدف

نحوه نگهداری فرآورده‌های پلاکتی بر روی اثر بخشی فرآورده پلاکتی تزریقی تأثیری به سزا دارد. نحوه نگهداری فرآورده پلاکت در مراکز انتقال خون مطابق دستورالعمل‌های سازمان می‌باشد ولی اطلاع روشنی از وضعیت نگهداری آن در مراکز درمانی و میزان PSL (platelet storage lesion) ناشی از آن در دست نیست. لذا در این تحقیق قصد داریم تا این مهم را تا روز پنجم نگهداری در شرایط پایگاه و مرکز درمانی بررسی و مقایسه نماییم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، ۳۰ فرآورده پلاکتی به صورت تصادفی طی ۳ ماه از اردیبهشت تا مرداد ۱۳۹۴ انتخاب و در شرایط نگهداری پایگاه و مرکز درمانی قرار گرفتند. آزمایش‌های شمارش پلاکتی و گلبول‌های سفید، pH، MPV، آلودگی باکتریایی، بیان گلیکوپروتئین‌های CD62P و CD63 در روزهای ۱، ۳، ۵ انجام گردید. نتایج ابتدا با روش کولوگروف اسمیرنوف و سپس با استفاده از روش‌های آماری paired t-test و t-test مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها

فرآورده‌های پلاکتی پایگاه در روز اول تولید، با استانداردهای ملی مطابق بودند. لیکن طی نگهداری کاهش معناداری در شمارش پلاکتی، لکوسیتی و pH و افزایش معناداری در MPV و بیان مارکرهای CD62P و CD63 در هر دو مرکز دیده شد ($p < 0/001$). تفاوت بین مرکز درمانی و مرکز انتقال خون معنادار نبود.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد کیفیت فرآورده‌های پلاکتی تولیدی تا روز سوم در محدوده استاندارد قرار داشت، لیکن در روز پنجم، از لحاظ شمارش پلاکتی در محدوده پایین‌تر از استاندارد قرار گرفت. تفاوت معناداری بین کیفیت فرآورده‌های پلاکتی پایگاه و مرکز درمانی یافت نشد.

کلمات کلیدی: تزریق پلاکت، کنترل کیفی، پلاکت‌های خون، شمارش پلاکت

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۲۱

تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۳۱

۱- کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون - مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۲- PhD هماتولوژی آزمایشگاهی و بانک خون - استادیار مرکز تحقیقات خون و انکولوژی دانشگاه علوم پزشکی تبریز - تبریز - ایران

۳- متخصص بیماری‌های عفونی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران

۴- مؤلف مسئول: متخصص بیماری‌های عفونی - استادیار مرکز تحقیقات انتقال خون - مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون - تهران - ایران - صندوق

پستی: ۱۴۶۶۵-۱۱۵۷

مقدمه

از دهه ۱۹۵۰، مشاهده شده که انتقال فرآورده پلاکتی میزان مرگ و میر حاصل از خونریزی در بیماران مبتلا به لوسمی حاد را به طور چشمگیری کاهش می‌دهد. از آن رو استفاده از فرآورده‌های پلاکتی به عنوان بخشی اساسی در درمان بیماری‌های سرطانی، بدخیمی‌های خونی، نقایص مغز استخوانی، پیوندهای سلول بنیادی خونساز، درمان بیماران ترومبوسایتوپنیک با خطر خونریزی و درمان بیماران با مشکلات خونریزی مربوط به جراحی و تروما پایه‌گذاری شد (۱).

موفقیت در تزریق پلاکت به زیست‌پذیری، دسترسی و فعالیت هموستاتیک پلاکت‌های تزریق شده در شرایط فیزیولوژیک گیرنده بستگی دارد (۲). کیسه‌های پلاکتی تهیه شده با توجه به نحوه و شرایط نگهداری، همواره در معرض آلودگی و افت کارایی قرار دارند به طوری که می‌توانند واکنش‌های ایمنی خطرناکی ایجاد کرده و از طرفی عفونت‌های کشنده‌ای هم چون عفونت‌های باکتریایی را انتقال دهند.

نگهداری این فرآورده در دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد، با کاهش متابولیسم پایه و افزایش عمر پلاکتی، کیفیت فرآورده پلاکتی را از لحاظ تعداد به طور چشمگیری ارتقا داده است (۳). لیکن همین امر باعث افزایش احتمال آلودگی این فرآورده نسبت به میکروارگانیزم‌ها شده است. کیفیت کنسانتره پلاکتی، نقش مهمی در درمان‌های حمایتی انتقال خون دارد (۴). هدف از کنترل کیفی فرآورده‌ها، دسترسی به پتانسیل هموستاتیک کنسانتره‌های پلاکتی و کم کردن عوارض مربوط به آن است (۱).

مطابق با استانداردهای ملی ایران، فرآورده‌های پلاکتی تهیه شده از خون کامل می‌بایست در پایان روز نگهداری حداقل تعداد پلاکت بیشتر یا مساوی $10^{10} \times 5/5$ و pH بیشتر یا مساوی ۶/۲ در ۹۰ درصد فرآورده‌های مورد آزمایش را داشته باشند.

علاوه بر این موارد، طیفی از سایر آزمایش‌ها نیز برای بررسی میزان کیفیت و عملکرد فرآورده‌های پلاکتی در پژوهش‌ها به کار گرفته می‌شود. هیچ کدام از این

آزمایش‌ها به طور معمول در مراکز انتقال خون انجام نمی‌شوند. در حال حاضر تنها مارکر سنجش کیفیت پلاکت که در بیمارستان‌ها و مراکز درمانی در زمان تزریق انجام می‌شود عبارت است از بررسی ظاهری، تاریخ انقضاء و swirling پلاکت (۵). در روش‌های پیشرفته‌تر ارزیابی کیفیت پلاکتی که در پژوهش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، آزمایش‌هایی از قبیل اندازه‌گیری فعالیت پلاکت‌ها به وسیله بیان مارکرهای CD63 و CD62p به روش فلوسیتومتری را می‌توان نام برد و تعدادی روش‌ها نیز در کنترل کیفی فرآورده‌های پلاکتی انجام می‌گیرند که می‌توان شمارش‌های سلولی (پلاکت، لکوسیت، اریتروسیت)، اندازه‌گیری pH، و بررسی آلودگی باکتریایی به وسیله کشت را برشمرد (۴). در پژوهش‌ها در محیط آزمایشگاه، فعالیت پلاکت‌ها به وسیله بیان CD62p و CD63 اندازه گرفته می‌شود که با pH و swirling پلاکتی رابطه دارد (۶). با توجه به این نکته که نحوه تهیه فرآورده پلاکتی و نیز شرایط نگهداری آن، نه تنها این محصول را بیش از سایر فرآورده‌های خونی در معرض خطر آلودگی و انتقال باکتریال قرار می‌دهند، که کارآمدی فرآورده مذکور را نیز به چالش می‌کشند، لذا در مطالعه حاضر، تغییرات کیفیت فرآورده‌های پلاکت تولیدی در استان آذربایجان - شرقی طی دوران نگهداری در پایگاه و مرکز درمانی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی از ۳۰ نفر داوطلب اهداکننده خون، که به پایگاه منطقه‌ای انتقال خون استان آذربایجان شرقی مراجعه نموده بودند، ۴۵۰ میلی‌لیتر خون در کیسه‌های سه‌تایی (ماکوفارما) حاوی ضد انعقاد CPDA1 (Citrate phosphate dextrose) جمع‌آوری گردید. کیسه‌های خون تهیه شده، در عرض کمتر از ۱ ساعت به بخش فرآورده سازمان، انتقال یافت. ابتدا، کیسه‌های خون را در سانتریفیوژ (ROTO SILENTA 630 RS) قرار داده و به مدت ۳ دقیقه با شتاب ۲۰۰۰ G و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. در این مرحله به وسیله دستگاه جداکننده، پلاسما غنی از پلاکت در کیسه‌های

خون به کیسه جانبی با نشان پلاکت منتقل گردید و کیسه‌های اصلی حاوی گلبول‌های قرمز فشرده به وسیله دستگاه سیلر جدا شدند. در مرحله بعد کیسه‌های حاوی پلاسما غنی از پلاکت به مدت ۶ دقیقه با شتاب ۵۰۰۰ G و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. در نهایت پس از سانتریفیوژ، پلاسما رویی خالی از پلاکت به کیسه جانبی انتقال یافت و رسوب پلاکتی ته نشین شده به صورت فشرده و کثباتر در کیسه‌های با نشان پلاکتی باقی ماند. کیسه‌های پلاکتی تهیه شده به مدت یک ساعت در دمای آزمایشگاه در محدوده ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد به حالت سکون قرار داده شدند تا توده پلاکتی فشرده شده درون پلاسما باز شده و به حالت سیال درآید. فرآورده‌های پلاکتی تهیه شده در شرایط نگهداری محصولات پلاکتی پایگاه در دمای ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد با چرخش ۶۰ دور در دقیقه به مدت ۲۴ ساعت جهت انجام آزمایش‌های غربالگری قرنطینه شدند. پس از حصول جواب آزمایش‌های غربالگری و اطمینان از سلامت محصولات، فرآورده‌های پلاکتی برچسب‌گذاری و آماده پخش به مراکز درمانی گردیدند. این روز به عنوان روز ۱ فرآورده پلاکتی در این مطالعه در نظر گرفته شد. تعداد ۳۰ کیسه پلاکتی به صورت تصادفی با استفاده از جدول اعداد تصادفی در روزهای مختلف در مدت سه ماه از اردیبهشت تا مرداد ماه سال ۱۳۹۴ انتخاب شدند. تمامی کیسه‌های مورد استفاده در این مطالعه، تولیدی شرکت ماکوفارما (فرانسه) با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر و دو سال ماندگاری بودند. کیسه‌های پلاکتی انتخابی پس از اندازه‌گیری حجم به سه کیسه پلاکتی (۱، ۲، ۳) با حجم تقریباً یکسان تقسیم شدند:

ابتدا سطح داخلی هود (BEASAT) به وسیله الکل و گاز استریل به طور کامل ضد عفونی و به مدت نیم ساعت، نور UV و سیستم تهویه هود روشن گردید. به این ترتیب محیط داخلی هود استریل و تمام عوامل مداخله‌گر احتمالی موجود در محیط داخلی هود به صورت کامل پاک‌سازی شد.

در زیر هود و در شرایط استریل با استفاده از وسایل حفاظتی و دستکش، ابتدا ضد انعقاد موجود در کیسه سه‌تایی ماکوفارما از کیسه اصلی به کیسه جانبی انتقال داده

و به وسیله سیلر، کیسه جانبی جدا شد. با جداسازی کیسه حاوی ضد انعقاد، دو کیسه خالی باقی ماند و کیسه سه‌تایی اولیه به کیسه دو تایی تبدیل گردید. در مرحله بعد، فرآورده پلاکتی حاوی پلاکت به خوبی مخلوط شد، سپس سوزن مخصوص کیسه دو تایی از طریق یکی از ورودی‌های کیسه پلاکتی، وارد فرآورده پلاکتی گردید و دو سوم محتوای پلاکتی آن به یکی از کیسه‌های دو تایی منتقل و یک سوم پلاکت در فرآورده پلاکتی باقی گذاشته شد. در مرحله بعد، نصف محتوای پلاکتی موجود در کیسه دو تایی به کیسه جانبی انتقال یافت. به این ترتیب سه کیسه پلاکتی با حجم تقریباً یکسان تهیه شد. در پایان، کیسه‌های فرآورده پلاکتی با شماره‌های ۱، ۲ و ۳ علامت‌گذاری گردیدند. کیسه شماره ۱ به منظور نمونه‌برداری در زیر هود باقی گذاشته شد و کیسه‌های شماره ۲ و ۳ پانزده فرآورده پلاکتی در شرایط نگهداری فرآورده‌های پلاکتی در پایگاه منطقه‌ای انتقال خون آذربایجان شرقی و کیسه‌های شماره ۲ و ۳ پانزده فرآورده پلاکتی دیگر در جعبه مخصوص حمل و نقل فرآورده‌های پلاکتی با دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد به بیمارستان قاضی تبریز ارسال و در شرایط استاندارد بیمارستان نگهداری شدند. در روزهای ۱، ۳ و ۵ نگهداری، از فرآورده‌های پلاکتی نگهداری شده در پایگاه و مرکز درمانی به ترتیب از محتوای پلاکتی داخل کیسه‌های ۱، ۲ و ۳ به وسیله سرنگ در شرایط استریل و زیر هود، نمونه‌برداری جهت انجام آزمایش‌های کشت باکتریال، شمارش پلاکتی، شمارش گلبول سفید، MPV، اندازه‌گیری pH، میزان بیان مارکرهای سطحی CD62P و CD63 به ترتیب بر روی آن‌ها صورت گرفت. به منظور ارزیابی استریلیتی فرآورده‌های پلاکتی و پایداری آن طی دوران نگهداری، ابتدا در روز اول و سپس در روزهای ۳ و ۵ از فرآورده‌های پلاکتی نمونه‌برداری و به ترتیب زیر مورد بررسی قرار گرفتند: مقدار ۱ میلی‌لیتر از فرآورده پلاکتی را به روی ۱۰ میلی‌لیتر محیط مایع تایوگلیکولات افزوده و به مدت ۷ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. روزانه محیط مایع تایوگلیکولات از نظر وجود یا عدم وجود کدورت به صورت چشمی مورد بررسی قرار گرفت. پس از طی ۷ روز و مشاهده عدم

وجود کدورت در محیط مایع تایوگلیکولات، اقدامات زیر انجام گرفت:

یک لوپ از محیط را برداشته و بر روی لام گسترش تهیه شد. با استفاده از رنگ‌آمیزی گرم، لام تهیه شده مورد بررسی قرار گرفت. یک لوپ (۱۰ میکرولیتر) دیگر از محیط جداگانه بر روی سه محیط بلاد آگار به صورت خطی کشت داده شد. یکی از محیط‌ها در حضور CO₂، یکی در شرایط هوازی و دیگری در جار بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردید، محیط‌ها روزانه از نظر رشد یا عدم رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور ارزیابی pH فرآورده‌های پلاکتی، ابتدا دستگاه (JENWay 3320, UK) روشن و به مدت ۱۵ دقیقه جهت رسیدن به دمای مناسب روشن قرار داده شد. سپس دستگاه با استفاده از بافر CentiPURE با pH=۷ کالیبره و سپس میزان pH فرآورده‌های پلاکتی مورد ارزیابی قرار گرفت.

جهت محاسبه شمارش پلاکتی، شمارش گلبول سفید و پارامتر MPV، دستگاه اتوماتیک سیس مکس kx21 روشن، کالیبره و کنترل گردید. پس از اطمینان از صحت عملکرد آن، نمونه‌ها از لحاظ میزان شمارش پلاکتی، گلبول سفید و MPV ارزیابی شدند.

به علاوه به منظور بررسی میزان فعال شدن پلاکت‌ها در زمان نگهداری و ارزیابی تغییرات بیان مارکرهای CD63 و CD62P، در روزهای ۱، ۳ و ۵ مقدار ۵۰۰ میکرولیتر نمونه از فرآورده پلاکتی در یک لوله پلاستیکی تمیز قرارداد شد و به منظور شستشو با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات‌مخلوط گردید. لوله به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰G سانتریفیوژ شد. محلول رویی سوسپانسیون پلاکتی تخلیه گردید. این عمل شستشو دو بار انجام گرفت. با استفاده از ۱ میلی‌لیتر محلول بافر ۱٪ پارا فرم آلدئید، رسوب پلاکتی ته‌نشین شده به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰G شستشو داده شد. محلول رویی سوسپانسیون پلاکتی تخلیه و ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات‌مخلوط اضافه گردید. سوسپانسیون حاصله به رقت ۱۰^۶ پلاکت در میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون پلاکتی در چهار لوله به صورت جداگانه قرار داده و به هر کدام از

لوله‌ها مقدار ۵۰ میکرولیتر محلول بافر فسفات‌مخلوط حاوی ۲٪ آلبومین سرم گاوی افزوده و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. به هر یک از لوله‌ها به صورت جداگانه ۵ میکرولیتر از آنتی‌بادی‌های FITC CD63، CD62P-PE، FITC CD61-PE (کنترل مثبت) و IgG1 PE/FITC (کنترل منفی) افزوده و به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق و تاریکی انکوبه شد. در پایان مقدار ۷۰۰ میکرولیتر پارافرم آلدئید ۰/۵٪ به لوله‌ها افزوده شد و سوسپانسیون فوق در دستگاه فلوسایتومتری Calibur FACS مورد ارزیابی قرار گرفت. اطلاعات مربوط به فرآورده‌های پلاکتی و نتایج آزمایش‌ها به وسیله مسترلیست گردآوری و ثبت گردید. داده‌های به دست آمده از آزمایش‌ها با استفاده از برنامه SPSS ۱۶ آنالیز گردیدند. در این پژوهش تمامی داده‌ها در آزمایش‌های پارامتریک با آزمون کولموگروف اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفتند که نتایج به دست آمده برای هر آزمایش مساوی یا بالاتر از ۰/۰۵ گزارش گردیدند. این نتایج، نشان‌دهنده توزیع طبیعی داده‌ها بودند و در نهایت از آزمون Paired-Samples T Test جهت بررسی معناداری اختلاف نتایج در روزهای مختلف در یک مرکز و آزمون t student در ارزیابی اختلاف میانگین پارامترهای مورد مطالعه بین دو مرکز استفاده گردید. حدود معناداری در این پژوهش نیز $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین حجم فرآورده‌های پلاکتی تولیدی پایگاه ۵۶/۳۸ (۶۸-۴۸/۶) میلی‌لیتر به دست آمد. تمامی فرآورده‌های پلاکتی در روز تولید و طی مدت نگهداری ۵ روز، از لحاظ آلودگی باکتریایی منفی بودند.

فرآورده‌های پلاکتی انتخابی در روز ترخیص (روز ۱)، با میانگین و انحراف معیار شمارش پلاکتی در محدوده ۱۰^۳ × ۲۰۴ ± ۱۱۷۹ در واحد میکرولیتر و با احتساب میانگین حجم فرآورده‌ها به عبارت ۵۶/۳۸ میلی‌لیتر به طور متوسط دارای ۱۰^{۱۰} × ۶/۶۴ پلاکت در کیسه بودند که مطابق با استانداردهای ملی لازم برای کیفیت فرآورده پلاکتی گزارش گردید. میانگین و انحراف معیار شمارش پلاکتی فرآورده‌های پلاکتی در روز سوم ۱۰^۳ × ۱۶۳ ± ۱۰۳۲ در

مرکز درمانی، میزان MPV در فرآورده‌های پلاکتی با افزایش معناداری مواجه گردیده بود ($p < 0/001$) ولی تفاوت تغییرات بین پایگاه و مرکز درمانی معنادار نبود (جدول ۱).

میانگین و انحراف معیار میزان بیان مارکرهای سطحی CD62P و CD63 در فرآورده‌های نگهداری شده در مرکز درمانی و پایگاه با گذشت زمان در طی دوران نگهداری با افزایش معناداری مواجه گردیدند ($p < 0/001$) (جدول ۲).

به طور کلی مشاهده گردید تغییرات حاصل از این بررسی‌ها در روزهای مختلف نگهداری نسبت به هم (روز ۱ با ۳، روز ۱ با ۵ و نیز ۳ با ۵) معنادار بودند ($p < 0/001$). لیکن این تغییرات در شرایط نگهداری پایگاه و مرکز درمانی نسبت به هم معنادار نبودند.

در شکل ۱ نمونه‌ای از آنالیزهای فلوسایتومتری نشان داده شده است. در این نمونه میزان افزایش بیان مارکرهای CD63 و CD62P به وضوح دیده می‌شود که نشانگر افت کیفیت فرآورده‌های پلاکتی و متعاقباً افت بازده درمانی این محصول می‌باشد.

واحد میکرولیتر و در روز پنجم با میانگین و انحراف معیار $10^3 \times 914 \pm 105$ در واحد میکرولیتر بودند. با احتساب میانگین حجم، شمارش پلاکتی فرآورده‌ها در روز سوم به طور متوسط برابر با $10^{10} \times 5/81$ و در روز پنجم برابر با $10^{10} \times 5/1$ بود. با توجه به این نتایج، مشخص گردید فرآورده‌های پلاکتی در روزهای ۱ و ۳ از لحاظ شمارش پلاکتی دارای شرایط استاندارد و کیفیت مناسب بودند لیکن این معیار در روز پنجم به پائین‌تر از حد استاندارد رسید که فاقد کیفیت تعریف شده در استاندارد ملی برای شمارش پلاکتی بود. میزان شمارش پلاکتی به موازات هم در هر دو شرایط نگهداری مرکز درمانی و پایگاه با گذشت زمان با کاهش معناداری نسبت به شمارش پلاکتی روز اول همراه بودند ($p < 0/001$). تفاوت معناداری بین نتایج شمارش پلاکتی دو مرکز نسبت به هم مشاهده نگردید.

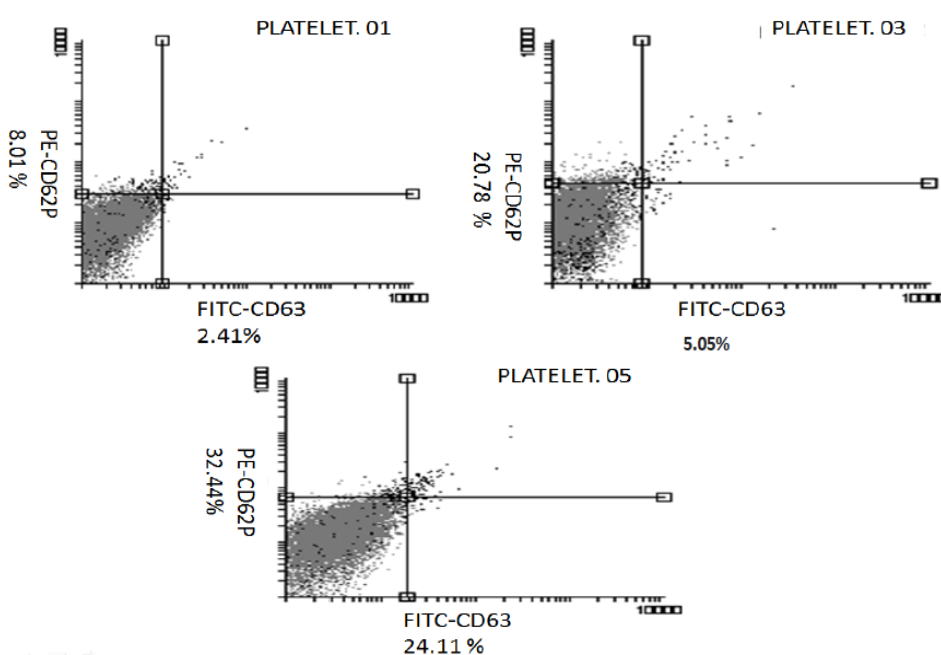
شمارش لکوسیتی فرآورده‌های پلاکتی در روز اول کمتر از $10^3 \times 1$ در میکرولیتر بود (جدول ۱). روز ۳، pH فرآورده‌های پلاکتی نیز طی دوران نگهداری با کاهش معناداری مواجه گردیدند، لیکن در روز پنجم نیز در محدوده استاندارد تعریف شده قرار داشتند ($p < 0/001$). با نگهداری فرآورده‌های پلاکتی در شرایط نگهداری پایگاه و

جدول ۱: نتایج آزمایش‌های شمارش پلاکتی، شمارش لکوسیتی MPV و pH فرآورده‌های پلاکتی

| | روز ۱ | | روز ۳ | | روز ۵ | |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | پایگاه | مرکز درمانی | پایگاه | مرکز درمانی | پایگاه | مرکز درمانی |
| شمارش پلاکتی $\times 10^3$ در μL | 1156 \pm 219 | 1202 \pm 193 | 1042 \pm 170 | 1021 \pm 162 | 936 \pm 137 | 914 \pm 164 |
| شمارش لکوسیتی $\times 10^3$ در μL | 0/8 \pm 0/42 | 0/8 \pm 0/30 | 0/58 \pm 0/26 | 0/56 \pm 0/26 | 0/52 \pm 0/25 | 0/44 \pm 0/16 |
| MPV | 8/06 \pm 1/1 | 7/53 \pm 0/57 | 8/36 \pm 1/17 | 7/84 \pm 0/65 | 8/76 \pm 1/26 | 8/39 \pm 1/03 |
| pH | 7/51 \pm 0/14 | 7/45 \pm 0/11 | 7/38 \pm 0/14 | 7/32 \pm 0/21 | 6/95 \pm 0/17 | 6/89 \pm 0/18 |

جدول ۲: نتایج حاصل از تغییرات روز به روز میزان بیان مارکرهای CD62P و CD63 در مرکز درمانی و پایگاه. p value برای تغییرات روزهای ۱ با ۳، ۱ با ۵، ۳ با ۵ برابر با بوده است ($p = 0/001$).

| | روز ۱ | | روز ۳ | | روز ۵ | |
|-------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|
| | پایگاه | مرکز درمانی | پایگاه | مرکز درمانی | پایگاه | مرکز درمانی |
| CD62P | 12/04 \pm 3/66 | 10/28 \pm 2/45 | 18/43 \pm 2/41 | 16/65 \pm 8/17 | 33/49 \pm 7/38 | 26/28 \pm 8/74 |
| CD63 | 3/24 \pm 1/84 | 3/04 \pm 1/59 | 6/23 \pm 5/24 | 7/63 \pm 4/47 | 27/58 \pm 12/55 | 18/51 \pm 1/90 |



شکل ۱: نمونه‌ای از آنالیزهای فلوسیتومتری بررسی میزان بیان مارکرهای CD63 و CD62P

از عوامل مؤثر بر کیفیت فرآورده پلاکت؛ pH فرآورده و شمارش گلبول‌های سفید در آن است. همان طور که می‌دانیم فرآورده‌های پلاکتی در دمای ۲۰ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند که این دما منجر به افزایش تولید لاکتات به دلیل گلیکولیز و متعاقب آن افت pH می‌گردد. حضور گلبول‌های سفید در فرآورده پلاکتی و هم چنین آلودگی باکتریایی ایجاد رقابت برای اکسیژن موجود می‌کنند که باعث افت سریع pH می‌شود (۷).

سازمان دارو و غذا آمریکا (FDA) تاکید می‌کند که فرآورده‌های خونی علاوه بر سلامت، می‌بایست دارای بازده درمانی مطلوب نیز باشند. مطابق استانداردهای ملی، حجم توصیه شده برای فرآورده‌های پلاکتی در محدوده ۷۰ - ۴۰ میلی‌لیتر با دامنه ۳۰ میلی‌لیتر قرار دارد. با عنایت بر معیار فوق، کلیه فرآورده‌های پلاکتی پایگاه از نقطه نظر حجم در محدوده استاندارد قرار داشتند و از لحاظ کیفیت و کنترل کیفی مورد تایید بودند. هم چنین مطابق با استانداردهای ملی سازمان، فرآورده‌های پلاکتی تولیدی پایگاه، در روز اول از نظر استریلیتی و عاری بودن از آلودگی باکتریایی سالم و دارای شرایط استاندارد گزارش شدند و این سلامت در دوران نگهداری نیز حفظ شده بود.

بحث

از آن جایی که کیفیت فرآورده‌های پلاکتی یک ویژگی مهم در انتقال خون درمانی محسوب می‌گردد و اثر بخشی درمان وابسته به آن است، به علاوه پلاکت‌ها شدیداً نسبت به شرایط ذخیره‌سازی آسیب‌پذیرند، بنابراین نحوه نگهداری پلاکت در مراکز درمانی و انتقال خون بسیار اهمیت دارد. در این مطالعه، ارزیابی فاکتورهای کیفیت پلاکت در زمان ذخیره و نگهداری در پایگاه و مرکز درمانی نشان داد که این فرآورده در زمان تولید، کیفیت مطلوبی دارد ولی با گذشت زمان، افت کیفیت از نظر پارامترهای آلودگی باکتریال، شمارش پلاکت، شمارش گلبول سفید، MPV، pH و بیان مارکرهای نشانگر فعال شدن پلاکت‌ها در وضعیت نگهداری هم در پایگاه و هم در مرکز درمانی مشهود است و علی‌رغم این که این پارامترها در روز سوم مورد آزمایش هم چنان در محدوده استاندارد قرار داشتند، در روز پنجم شمارش پلاکتی به مقادیر پایین‌تر از محدوده استاندارد رسیده بود. هر چند وضعیت تغییرات کیفیت مرکز درمانی نسبت به پایگاه ارجحیت یا نقصانی نداشت و ضایعات ناشی از نگهداری فرآورده در این دو وضعیت اختلاف معناداری نشان ندادند.

باکتریایی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه، فرآورده‌های پلاکتی را به ۲ گروه کنترل و آزمایش تقسیم کرده و نمونه آزمایش را با یکی از ۹ گونه باکتری شایع در آلودگی باکتریایی آلوده نمودند. فرآورده‌ها را به مدت ۷ روز در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد با حرکت ملایم انکوبه کردند. پس از ۷ روز مشاهده گردید میزان شدت کاهش در pH با تیترا باکتری رشد کرده رابطه مستقیم دارد. به طوری که شدت کاهش pH در فرآورده‌های پلاکتی آلوده نسبت به گروه کنترل بالاتر بود (۹).

با عنایت بر عدم وجود آلودگی باکتریایی و این مهم که مطابق استاندارد ملی ایران، pH فرآورده پلاکتی نباید از ۶/۲ کمتر شود که در این مطالعه نیز چنین بود، pH فرآورده‌های پلاکتی مورد استفاده در همه روزهای پژوهش در محدوده قابل قبول قرار داشتند. فرآورده‌های پلاکتی طی دوران نگهداری کاهش معناداری در شمارش لکوسیتی نشان دادند. دوران نگهداری، شمارش گلبول‌های سفید را به طور معناداری تحت تاثیر قرار می‌دهد و باعث از بین رفتن گلبول‌های سفید در فرآورده‌های پلاکتی می‌گردد. افزایش معنادار میزان بیان مارکر سطحی CD62P که یک پروتئین غشایی وابسته به فعال شدن پلاکت‌هاست و CD63، طی دوران نگهداری نشان‌دهنده میزان فعال شدن و افت کیفیت پلاکت‌های موجود در فرآورده‌های پلاکتی تحت تاثیر نگهداری آن‌ها در شرایط نگهداری پایگاه و مرکز درمانی می‌باشد. این تفاوت‌ها و تغییرات به موازات هم در هر دو طرف مورد بررسی یعنی پایگاه و مرکز درمانی در مقایسه داده‌های روزهای ۱، ۳، ۵ با ۳ و ۵ مشاهده شده ولیکن تفاوت معناداری بین یافته‌های مرکز درمانی و پایگاه دیده نشد. این افزایش در میزان بیان مارکرهای فوق نشان‌دهنده افت کیفیت پلاکت‌ها با افزایش زمان نگهداری می‌باشند. شرایط نگهداری و سایر عوامل مثل دما، افت pH و افزایش برخورد پلاکت‌ها با گذشت زمان سبب فعال شدن پلاکت‌ها و متعاقب آن افزایش بیان مارکرهای CD62P و CD63 می‌گردد. در مطالعه‌ای دکتر پورفتح اله و همکاران با استفاده از ۲۴ نمونه نشان دادند که با فعال شدن پلاکت‌ها و افزایش بیان مولکول‌های CD62P و CD63، توانایی عملکرد پلاکت‌ها به صورت معناداری

از این لحاظ تفاوت معناداری بین پایگاه انتقال خون و مرکز درمانی مشاهده نشد. فرآورده‌های پلاکتی در دمای اتاق نگهداری می‌شوند و بنابراین در مقایسه با سایر فرآورده‌های خونی در معرض خطر بالای آلودگی باکتریایی قرار دارند. حداکثر مدت نگهداری فرآورده‌های پلاکتی در مراکز بانک خون تا ۵ روز می‌باشد.

در برخی مراکز مثل کشورهای اروپایی این مدت تا ۷ روز نیز افزایش یافته است و این افزایش زمان مستلزم نظارت پس از ارسال فرآورده‌ها به مراکز درمانی و انجام آزمایش باکتریایی تمامی فرآورده‌ها می‌باشد. رشد باکتری در تیتراهای بالای مرتبط با افزایش مدت زمان نگهداری، انجام تحقیقات بیشتر برای پیدا کردن روش‌های تضمین کننده سلامت فرآورده‌های پلاکتی را الزامی می‌سازد. طبق آمارهای سال ۲۰۱۶ نشان داده شده است که امروزه در هلند ۰/۴۴٪ کل فرآورده‌های پلاکتی تولیدی آلوده می‌باشند (۸). فرآورده‌های پلاکتی در پایگاه تبریز حداکثر تا ۵ روز نگهداری می‌شوند و فرآورده‌های مورد آزمایش در این مطالعه مطابق با نتایج حاصل شده، طی مدت ۵ روز عاری از آلودگی باکتریایی بودند. هر چند با توجه به تعداد نمونه آزمایش شده می‌توان نتیجه گرفت که احتمال یافتن آلودگی باکتریال در این مطالعه نیز چندان بالا نبوده است. در هر صورت در این مطالعه؛ هدف بررسی شیوع آلودگی باکتریال به صورت اختصاصی را نیز دنبال نمی‌کرده است. در این خصوص مطالعه‌های بعدی با حجم نمونه بیشتر توصیه می‌شود.

کیفیت فرآورده‌های پلاکتی تولیدی در پایگاه در روز اول، تمامی استانداردهای ملی و بین‌المللی تعریف شده برای کیفیت یک محصول پلاکتی را داشتند. این کیفیت در طی دوران نگهداری افت معناداری را نشان داد به طوری که pH فرآورده‌ها همراه با شمارش پلاکتی به طور معناداری در روزهای سوم و پنجم کاهش یافت (۰/۰۰۱ < p). گفتمنی است در روز پنجم، کیفیت فرآورده‌ها افت معناداری را هم نسبت به روز اول و هم نسبت به روز سوم نشان دادند (۰/۰۰۱ < p). در سال ۲۰۱۶، ماریا لوزاکورا و همکارانش فرآورده‌های پلاکتی تولیدی به روش آفرزيس و بافی‌کوت را از لحاظ pH به منظور شناسایی آلودگی

کاهش می‌یابد و باعث افت کارایی فرآورده‌های پلاکتی در بیماران می‌شود (۱۰).

هم چنین مطالعه‌های گذشته نشان داده‌اند که با توجه به حجم کم پلاسمای فرآورده پلاکتی، احتمال برخورد پلاکت‌ها با هم و شروع فرآیند فعال شدن و تجمع پلاکتی قبل از تزریق افزایش یافته، بنابراین باعث کاهش تعداد پلاکت‌ها می‌گردد (۱۱).

در ایران در سال ۲۰۱۵، قزلباش و همکارانش در مطالعه‌ای مشابه تعداد ۴۰ فرآورده پلاکتی تهیه شده به روش PRP در مراکز انتقال خون را به مدت ۵ روز از لحاظ pH، MPV، بیان مارکر CD62P، آلودگی باکتریایی و اگر گومتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشانگر افت کیفیت پلاکتی بودند به طوری که pH فرآورده‌ها، مشابه مطالعه حاضر به صورت چشمگیری کاهش یافته بود. قزلباش و همکارانش نشان دادند که فرآورده‌های پلاکتی تولیدی مراکز انتقال خون ایران طی مدت ۵ روز نگهداری، سلامت خود را از لحاظ آلودگی باکتریایی حفظ می‌کنند که مشابه مطالعه حاضر می‌باشد (۱۱). بیان مارکر CD62P طی مدت نگهداری در مطالعه قزلباش و همکاران با وجود اندکی افزایش مشابه یافته‌های این مطالعه، تفاوت معناداری در روزهای مطالعه نسبت به هم برخلاف یافته‌های مطالعه حاضر نشان نداد. افزایش بیان مارکر CD62P نشان دهنده فعال شدن پلاکت‌ها در طی دوران نگهداری می‌باشد که متاثر از نحوه نگهداری، دما، شرایط حمل و نقل و بسیاری عوامل دیگر می‌باشد. به عبارتی میزان افزایش در بیان این مارکر رابطه مستقیمی با عوامل ذکر شده دارد. این میزان تفاوت در نتایج مطالعه قزلباش و همکاران با مطالعه حاضر نشان دهنده افت شرایط نگهداری و حمل و نقل فرآورده‌های پلاکتی در پایگاه و مرکز درمانی می‌باشد که لزوم ارتقای شرایط موجود به منظور حصول معیارهای کیفیتی لازم در نگهداری طولانی مدت را بیش از پیش آشکار می‌سازد. حساسیت فرآورده پلاکتی به اندک تغییرات در شرایط لازم برای حفظ کیفیت مطلوب این فرآورده با افت فاحش و تغییرات غیر قابل جبران در کیفیت فرآورده پلاکتی

روبروست. بنابراین می‌بایست در تامین و حفظ شرایط مطلوب نگهداری و حمل و نقل فرآورده پلاکتی نهایت دقت و حساسیت مبذول گردد. مطالعه‌های بعدی در مورد بهبود نحوه حمل و نقل و نگهداری فرآورده پلاکتی به منظور حفظ کیفیت آن توصیه می‌شود.

افزایش بیان مولکول‌های CD62P و CD63 در مطالعه حاضر نشان‌دهنده فعال شدن پلاکت‌ها طی دوران نگهداری و به موازات آن افت کیفیت فرآورده‌های پلاکتی و کاهش بازده درمانی می‌باشد. در سال ۲۰۱۳ دکتر رحمان و همکارانش با بررسی کیفیت فرآورده‌های پلاکتی طی دوران نگهداری به مدت ۵ روز، با بررسی شمارش پلاکتی، شمارش گلبول‌های سفید و pH، نشان دادند که تمامی پارامترها در روز اول، معیارهای استاندارد بین‌المللی را دارند و این پارامترها طی دوران نگهداری به مدت ۵ روز با کاهش معناداری مواجه گردیدند، لیکن این پارامترها در روز ۵ نیز علی‌رغم این کاهش معنادار، در محدوده استاندارد بودند. این نتایج نشان‌دهنده این مطلب بود که شرایط نگهداری فرآورده‌های پلاکتی در بیمارستان دانشگاه SAINS در مالزی به مدت ۵ روز مناسب می‌باشد و در انتهای این مدت زمان نگهداری، همچنان محصول پلاکتی با کیفیت مناسب در دسترس است (۷).

شرایط نگهداری پلاکت‌ها با توجه به استانداردهای توصیه شده، در حفظ کیفیت و افزایش کارایی درمانی این فرآورده‌ها حیاتی است؛ کاوش و بررسی دوره‌ای و مداوم این عوامل در مراکز درمانی و پایگاه‌های تولید و نگهداری این فرآورده ضروری است.

پلاکت‌ها طی دوران نگهداری از لحاظ متابولیسم فعال بوده و از دو مسیر گلیکولیز و فسفریلاسیون اکسیداتیو به منظور تولید ATP استفاده می‌نمایند. مسیر گلیکولیز منجر به تولید اسید لاکتیک و کاهش pH و بنابراین افت کیفیت پلاکت‌ها می‌گردد لیکن مسیر فسفریلاسیون اکسیداتیو، اسید لاکتیک تولید نمی‌کند. از آن جایی که کیسه‌های امروزی مورد استفاده برای نگهداری پلاکت‌ها به اکسیژن اجازه نفوذ می‌دهند، مسیر فسفریلاسیون اکسیداتیو تحریک شده و بنابراین ماندگاری پلاکت‌ها طی دوران نگهداری

وضعیت موجود شرایط نگهداری فرآورده‌های پلاکتی، کیفیت و پایداری فرآورده‌های پلاکتی تولیدی این مرکز را بیش از پیش ارتقا داد.

نتیجه‌گیری

مطالعه کیفیت فرآورده‌های پلاکتی تولیدی در پایگاه انتقال خون استان آذربایجان شرقی و شرایط نگهداری آن‌ها در پایگاه و مرکز درمانی نشان داد که این فرآورده‌ها در روز تولید، تمامی استانداردهای لازم ملی را دارند و این کیفیت را تا روز سوم نگهداری حفظ می‌کنند و لیکن افت کیفیت فرآورده‌های پلاکتی در شرایط نگهداری پایگاه و مرکز درمانی نسبتاً شتابنده است. به علاوه مشخص شد تغییرات کیفیت حاصل از شرایط نگهداری فرآورده‌های پلاکتی در پایگاه انتقال خون و مرکز درمانی مشابه هم بوده و تفاوت معناداری در کیفیت فرآورده‌های نگهداری شده در مرکز درمانی و پایگاه انتقال خون مشاهده نگردید.

تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل تلاش و همکاری ریاست محترم، پرسنل محترم بخش فرآورده و کنترل کیفی سازمان انتقال خون تبریز به ویژه خانم‌ها محمدی، آهانگر و آقایان عبدی و عدالت‌خواه و هم چنین کمک‌های صمیمانه و بی‌دریغ خانم صالح می‌باشد. بدین وسیله از این عزیزان و کلیه کارکنان سازمان انتقال خون تبریز تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

افزایش می‌یابد (۱۲). بدیهی است حفظ شرایط استاندارد نگهداری پلاکت‌ها در مکان مناسب و استفاده از کیسه‌های پلاکتی نفوذپذیر به اکسیژن، باعث افزایش طول مدت نگهداری و هم چنین کیفیت فرآورده‌های پلاکتی می‌شود. در این مطالعه با توجه به رعایت شرایط استاندارد نگهداری در هر دو مرکز درمانی و بیمارستان، تفاوت چندانی در نتایج حاصل از مقایسه این دو مکان دیده نشد. با عنایت بر مدت مجاز نگهداری و تزریق فرآورده‌های پلاکتی در ایران و پایگاه انتقال خون آذربایجان شرقی و بررسی مطالعه‌های مشابه و مقایسه پایداری کیفیت فرآورده‌های پلاکتی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که شتاب افت کیفیتی فرآورده‌های پلاکتی، در پایگاه انتقال خون آذربایجان شرقی اندکی بالاتر می‌باشد و این افت کیفیتی به نوبه خود منجر به افت بازده درمانی در بیماران نیز خواهد شد. در سازمان‌های انتقال خون به منظور ارتقای کیفیت فرآورده‌های پلاکتی و افزایش میزان پایداری آن‌ها، اقدامات گسترده‌ای هم چون مطالعه دکتر پورمختار در بررسی روش‌های مختلف تهیه و هم در افزایش پایداری فرآورده‌های پلاکتی مداخلاتی هم چون مطالعه دهیم در بررسی تاثیر افزودن ال کارنیتین به فرآورده‌های پلاکتی و نیز بررسی وضعیت موجود تهیه و نگهداری آن مثل مطالعه‌های همدا انجام گرفته است (۱۵-۱۳). امید است در سازمان انتقال خون استان آذربایجان شرقی نیز با بهره‌گیری از نتایج مطالعه حاضر در راستای پیگیری و بررسی

References:

- 1- Coêlho MJ, Monteiro Tde C, Vasquez FG, Silva KL, Dos Santos KS, de Oliveira VM, et al. Platelet aggregation and quality control of platelet concentrates produced in the Amazon Blood Bank. Rev Bras Hematol Hemoter 2011; 33(2): 110-4.
- 2- Goodrich RP, Li J, Pieters H, Crookes R, Roodt J, Heyns Adu P. Correlation of *in vitro* platelet quality measurements with *in vivo* platelet viability in human subjects. Vox Sang 2006; 90(4): 279-85.
- 3- Murphy S, Gardner FH. Effect of storage temperature on maintenance of platelet viability--deleterious effect of refrigerated storage. N Engl J Med 1969; 280(20): 1094-8.
- 4- Ali SF. Platelet Activation in Stored Platelet Concentrates: Comparison of Two Methods Preparation. J Blood Disord Transfus 2011; 2(2): 107.
- 5- Maurer-Spurej E, Chipperfield K. Past and future approaches to assess the quality of platelets for transfusion. Transfus Med Rev 2007; 21(4): 295-306.
- 6- Dijkstra-Tiekstra MJ, Pietersz RN, Huijgens PC. Correlation between the extent of platelet activation in platelet concentrates and *in vitro* and *in vivo* parameters. Vox Sang 2004; 87(4): 257-63.
- 7- Ab Rahman WS, Hock LS, Asma S, Hassan R. Quality Assessment of Platelet Concentrates by Platelet Rich Plasma: A single Institution Experience. Int Med J 2013; 20(6): 755-8.
- 8- Ypma PF, van der Meer PF, Heddle NM, van Hilten

- JA, Stijnen T, Middelburg RA, *et al.* A study protocol for a randomised controlled trial evaluating clinical effects of platelet transfusion products: the Pathogen Reduction Evaluation and Predictive Analytical Rating Score (PREPAREs) trial. *BMJ Open* 2016; 6(1): e010156.
- 9- Loza-Correa M, Perkins H, Kumaran D, Kou Y, Qaisar R, Geelhood S, *et al.* Noninvasive pH monitoring for bacterial detection in platelet concentrates. *Transfusion* 2016; 56(6): 1348-55.
- 10- Soleimany Ferizhendy A, Aghaiepour M, Pourfathollah AA. Evaluation of platelet activation in platelet concentrates during storage in the Quality Control Laboratory of Iranian Blood Transfusion Organization in 2004. *Sci J Iran Blood Transfus Organ* 2005; 2(5): 163-9. [Article in Farsi]
- 11- Ghezelbash B, Amini Kafiabad S, Hojjati MT, Hamidpoor M, Vaeli S, Tabtabae MR, *et al.* *In Vitro* Assessment of Platelet Lesions during 5-day Storage in Iranian Blood Transfusion Organization (IBTO) Centers. *Arch Iran Med* 2015; 18(2): 114-6.
- 12- Fung MK, Grossman BJ, Hillyer ChD, Westhoff CM. *Technical Manual*. 18th ed; 2014. p. 150.
- 13- Pourmokhtar M, Salek Moghaddam E, Abbasi F, Zarei N. Comparative Study of Four Platelet-Rich Plasma Methods for Preparing Platelet Concentrates. *IJBC* 2013; 6(3): 103-7.
- 14- Deyhim MR, Mesbah-Namin SA, Yari F, Taghikhani M, Amirizadeh N. L-carnitine effectively improves the metabolism and quality of platelet concentrates during storage. *Ann Hematol* 2015; 94(4): 671-80.
- 15- Hamda EL-Sayed AH, Rania Fawzy, Manal Zahran, Ola Mahmoud, Emad Yacoub, Azza Moustafa. Impact of Different Preparation Methods on the *In Vitro* Quality of 8 Days Storage Platelet Concentrates. *Life Sci J* 2014; 11(1): 50-7.

Original Article

Evaluation of the quality of platelet components in Azarbaijan Sharghi Province: the comparison in the PSL between a blood center and a hospital

Yaghoubi R.¹, Shamsasenjan K.², Karimi Gh.¹, Zadsar M.¹

¹*Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran*

²*Hematology and Oncology Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran*

Abstract

Background and Objectives

Platelet concentrates are the most vulnerable blood products with the shortest shelf life. The aim was to assess the quality of produced platelet concentrates in the East Azerbaijan. In addition, the quality of products stored in the blood center was compared by products stored in one hospital during the period of five days.

Materials and Methods

In this descriptive study, thirty random donor platelet concentrates during 3 months from April to August 2015 were enrolled in the study. They were randomly classified into two groups, half were sent to the hospital and half remained in the blood center. The changes of their quality (platelet count, WBC count, MPV, pH, bacterial contamination, and CD62P and CD63 expression levels) were examined in the first, third and fifth days of storage in each group and comparison was made by accomplishing the paired sample t-test and t-test as deemed appropriate.

Results

All PCs on the first day met the national standard criteria; however, the quality parameters decreased significantly during storage. In addition there were no significant differences in the storage related changes in the quality between the blood center and hospital.

Conclusions

The quality of PCs produced in the blood center decreased during the storage time. By improving the storage conditions in the blood centers, it might be possible to extend the storage time of PCs by an acceptable quality. The significant difference was not observed between the platelets stored in the blood center compared to that stored in the hospital.

Key words: Platelet Transfusion, Quality Control, Blood Platelets, Platelet Count

Received: 11 Dec 2016

Accepted: 21 Jun 2017

Correspondence: Zadsar M., MD. Specialist in Infectious Diseases and Tropical Medicine. Assistant Professor of Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine. P.O.Box: 14665-1157, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88629615; Fax: (+9821) 88628741
E-mail: maryam_zad@yahoo.com