

## بررسی میزان مواد جهش‌زا در ادرار کارکنان آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی تهران: تست Ames

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۰۲/۱۳

### چکیده

علیرضا پرتوآذر\*

محمود قاضی خوانساری<sup>۱</sup>

محمدحسن عابدی<sup>۲</sup>، مهدی کاویانی<sup>۲</sup>

سید مهدی نوراشرف‌الدین<sup>۱</sup>

مجیدرضا بصیری<sup>۱</sup>، مریم طالبی<sup>۱</sup>

۱- گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه

علوم پزشکی تهران

۲- سازمان پزشکی قانونی تهران

\* نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، خیابان پورسینا،  
دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (گروه  
فارماکولوژی) تلفن: ۶۶۴۰۲۵۶۹  
email: partoazar@yahoo.com

**کلمات کلیدی:** جهش‌زایی، تست Ames، پزشکی قانون.

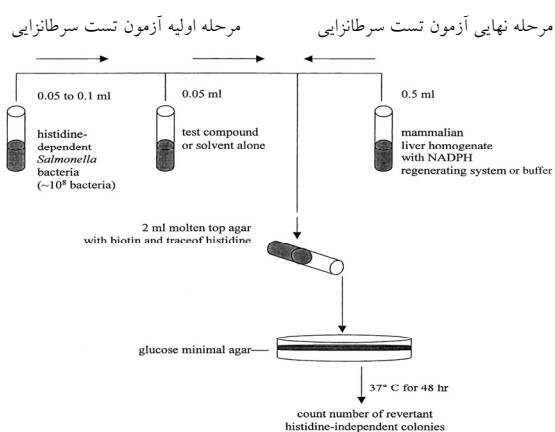
### مقدمه

در حال حاضر سه محور اصلی در مطالعات سرطان‌شناسی بر پیشگیری، تشخیص و درمان استوار است. در این میان پیشگیری سرطان از نظر صرفه‌جویی در هزینه‌های مالی ناشی از درمان بیماری و زمان طولانی دوره درمان و از طرفی جلوگیری از بروز تبعات فردی و اجتماعی ناشی از مرگ و میر بالای بیماری در کنترل سرطان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد.<sup>۱</sup> از آنجایی که ترکیبات فراوانی وجود دارند که می‌توانند روی DNA اثر کرده و در نهایت منجر به جهش‌زایی و سرطان‌زایی شوند (حدود ۹۰٪ مواد جهش‌زا سرطان‌زا نیز هستند) شناسایی این ترکیبات در محیط زندگی و محل کار به شکل آلاینده‌های زیست محیطی گام موثری در پیشگیری از بیماری سرطان خواهد بود.<sup>۲،۳</sup> یکی از مدل‌های مطرح و کاربردی جهت نشان دادن

جهش‌زایی تست Ames می‌باشد که به‌عنوان آزمایش حساس در تعیین جهش‌زایی مواد شیمیایی، دارویی، صنعتی و بیومانیورینگ محیط‌های کاری استفاده می‌گردد.<sup>۴،۵</sup> در آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی به‌علت کاربرد زیاد آلاینده‌های جهش‌زا مانند بنزن، گزیلول و فرمالدئید احتمال خطر ابتلاء به سرطان و یا انتقال ناهنجاری‌های ژنتیکی به نسل‌های بعد وجود دارد.<sup>۶،۷</sup> لذا از آزمون Ames در بررسی میزان جهش‌زایی محیط کاری آزمایشگاه‌های آن مرکز استفاده گردید.

### روش بررسی

این بررسی یک مطالعه توصیفی بوده که در سال ۱۳۸۶ بر روی حدود ۵۷ نمونه ادرار پرسنل (آزمایشگاهی و غیرآزمایشگاهی) آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی تهران و در آخر هفته کاری جهت



شکل-۱: مراحل آزمایش ایمز (Ames)

## یافته‌ها

جمعیت مورد مطالعه در این سری از آزمایشات کارکنان بخش‌های مختلف آزمایشگاه پزشکی قانونی تهران بودند که طی هماهنگی قبلی نمونه‌ها در اواخر هفته آنها جمع‌آوری و همراه پرسشنامه مربوطه به گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی تهران ارسال گردید. در مرحله اول، از نمونه‌های تهیه شده از کارشناسان و تکنسین‌های آزمایشگاهی به‌عنوان گروه تست و کادر غیرآزمایشگاهی و اداری به‌عنوان گروه شاهد استفاده شد. عوامل مداخله‌گر احتمالی در آزمون مانند استعمال دخانیات، استفاده از داروهای خاص مانند داروهای شیمی‌درمانی، خوردن غذاهای کنسروی به‌میزان زیاد و نیز شرایط محیط زیست مثل مجاورت محل سکونت با مراکز تولید مواد شیمیایی و سمی از افراد از طریق پرسشنامه ارزیابی به‌عمل آمد و در نهایت جهت تفسیر نتایج در گروه تست و شاهد لحاظ گردید. از دو ماده سدیم آزاید در روش بدون سیستم فعال‌ساز و آمینو انتراسن در روش همراه با سیستم فعال‌ساز متابولیسم به‌عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. همچنین از نمونه‌های پرسنل غیر آزمایشگاهی سازمان که به‌طور مستقیم در تماس مواد آزمایشگاهی نبودند همراه با DMSO برای کنترل منفی استفاده گردید (جدول ۱) و در نهایت میانگین نتایج ۱۰ نمونه در هر دو روش همراه و بدون سیستم فعال‌کننده متابولیسم به‌شکل کلنی برگشتی در سطح پلیت در محاسبات به‌کار گرفته شد. همچنین محدوده رشد کلنی‌های برگشتی نمونه‌های گروه کنترل هر سوش با جدول رفرانس مقایسه گردید تا در صورت وجود آلاینده‌های محیطی تداخل‌کننده و بالا بودن تعداد کلنی‌های برگشتی در گروه کنترل

دسترسی به حداکثر غلظت آلاینده موجود در نمونه ایشان انجام شد، سپس با استفاده از ستون C18 شرکت واترز (آمریکا) از نمونه‌ها عصاره‌گیری به‌عمل آمد. نحوه نمونه‌گیری غیر تروماتیک بوده و انجام آزمایش تحت شرایط *in-vitro* بر روی سوش‌های بی‌خطر و استاندارد سالمونلا صورت پذیرفت. مواد شیمیایی مورد استفاده در این آزمایش عمدتاً از شرکت مرک (آلمان) بوده و سوش‌های میکروبی استاندارد از مرکز کلکسیون میکروبی ایران تهیه گردید. در مرحله اول از دو سوش سالمونلا تایفی موریوم TA100، TA98 که از سوش‌های استاندارد در آزمون ایمز می‌باشد بدون استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسم استفاده گردید. سپس در مرحله بعد با استفاده از متد فعال‌سازی متابولیسم برای بررسی مواد پیش‌جهش‌زا بهره‌گرفته شد. برای انجام آزمایش ابتدا سوش‌های سالمونلا را در محیط کشت نوترینت براث غنی‌سازی نموده، سپس سوش‌ها را همراه نمونه در تاپ آگار و محیط کشت حداقل گلوکز یا GM آگار در انکوباتور ۳۷°C به مدت ۴۸-۷۲ ساعت قرار داده و پس از زمان یاد شده پلیت‌ها را برای شمارش کلنی‌های برگشتی بررسی می‌کنیم (شکل ۱). تمامی مراحل فوق برای انجام آزمایش سیستم فعال‌کننده متابولیسم با اضافه کردن ۰/۵ ml بافر S9 (رده سلولی کبد موش) به مخلوط قبلی تکرار گردید. در این روش با استفاده از فنوباریتال سیستم آنزیمی میکروزوم-مال موش را القا کرده و پس از یک هفته از طریق جراحی کبد حیوان را هموزنایز نموده و از طریق سانتریفیوژ آنزیم‌های آن جداسازی می‌گردد. از آنجایی که در طراحی آزمون Ames در ناحیه ژنوم تولید هیستیدین باکتری‌های سالمونلا تغییراتی ایجاد نموده‌اند این سوش‌ها در محیط بدون هیستیدین قادر به رشد نبوده و در صورتی که ماده‌ای جهش‌زا باشد باعث ترمیم نقص به‌وجود آمده در آن ژن خاص می‌گردد و در نتیجه به‌علت به‌دست آوردن توانایی تولید مجدد هیستیدین، سوش‌ها قادر به رشد و تکثیر می‌شوند.<sup>۸</sup> در آزمون Ames نتایج از کسر تعداد کلنی‌های برگشتی نمونه به‌تعداد کلنی‌های برگشتی نمونه کنترل منفی به‌دست می‌آید. در این تست نمونه‌ای مثبت تلقی می‌گردد که نسبت (Ratio) آن بیشتر از دو برابر باشد.<sup>۱۰</sup> در اتمام کار نتایج حاصله با توجه به معیار و فرمول راجع آن به‌شرح زیر آنالیز شدند.

$$\text{Ratio} = \frac{\text{تعداد کلنی‌های نمونه}}{\text{تعداد کلنی کنترل منفی}}$$

نمونه مثبت: نسبت بزرگتر و یا مساوی با دو، نمونه منفی: نسبت کوچکتر از دو

جدول ۱- نتایج گروه کنترل آزمون جهش‌زایی نمونه‌های کارکنان آزمایشگاه پزشکی قانونی با استفاده از سوش‌های TA98 و TA100 همراه با و بدون استفاده از فعال‌ساز

شمارش کلنی سوش TA98		شمارش کلنی سوش TA100		گروه کنترل
بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	
۲۵	۲۶	۶۵	۸۶	مذکر
۲۷	۲۳	۷۲	۱۰۶	مذکر
۲۱	۲۶	۷۷	۱۰۰	مذکر
۲۴	۱۹	۷۵	۸۵	مذکر
۲۵	۲۲	۶۸	۸۸	مذکر
۲۴	۲۱	۶۵	۹۸	مذکر
۲۹	۲۳	۸۵	۹۵	مذکر
۲۰	۲۰	۸۵	۹۱	مونث
۲۸	۲۴	۸۶	۱۰۲	مونث
۲۴	۱۸	۷۶	۹۸	مونث
۲۴/۷ (~ ۲۵)	۲۲/۲ (~ ۲۲)	۷۵/۴ (~ ۷۵)	۹۴/۹ (~ ۹۵)	میانگین*

\* مقادیر داخل پرانتز، رند شده با یک رقم اعشار می‌باشند.

جدول ۲- نتایج آزمون جهش‌زایی نمونه‌های مثبت و مشکوک کارکنان آزمایشگاه پزشکی قانونی با سوش‌های TA100 همراه با و بدون استفاده از سیستم فعال‌ساز متابولیسیم (رده سلولی S9 کبد موش)

Ratio of TA100		شمارش کلنی سوش TA100		نمونه
بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	
۱/۲۶	۱	۹۵	۹۵	* ۱
۱/۰۴	۱	۷۸	۹۵	* ۲
۰/۹۸	۰/۸۹	۷۴	۸۵	** ۳

میانگین شمارش کلنی گروه کنترل (بدون سیستم فعال‌ساز): ۷۵ میانگین شمارش کلنی گروه کنترل (همراه با سیستم فعال‌ساز): ۹۵

\* نمونه‌های مربوط به پرسنل بخش پاتولوژی \*\* نمونه مربوط به یکی از پرسنل بخش تشریح

جدول ۳- نتایج آزمون جهش‌زایی نمونه‌های مثبت و مشکوک کارکنان آزمایشگاه پزشکی قانونی با سوش‌های TA98 همراه با و بدون استفاده از سیستم فعال‌ساز متابولیسیم (رده سلولی S9 کبد موش)

Ratio of TA98		شمارش کلنی سوش TA98		نمونه
بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	بدون سیستم فعال‌ساز	همراه با سیستم فعال‌ساز	
** ۲/۲	** ~ ۲۰	۵۵	~ ۵۵۰	۱
۱/۲	** ۱۵	۳۰	۳۴۰	۲
۱/۲۴	* ۱/۸۶	۳۱	۴۱	۳

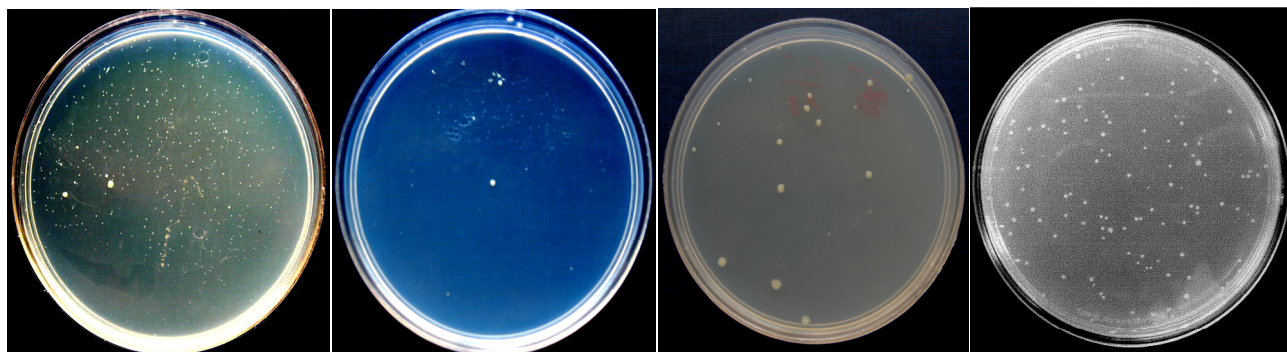
میانگین شمارش کلنی گروه کنترل (بدون سیستم فعال‌ساز): ۲۵ میانگین شمارش کلنی گروه کنترل (همراه با سیستم فعال‌ساز): ۲۲ \* نتیجه مشکوک \*\* نتیجه مثبت

نسبت به جدول رفرانس بتوان از حضور و تاثیر آنها در نتایج آزمایش مطلع شد. در ابتدا آزمایشات جهش‌زایی بدون استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسیم صورت گرفت. در این مرحله از آزمون تست Ames نمونه شماره ۱ متعلق به یک خدمه مرد در بخش پاتولوژی بود. این نمونه در رقت‌های ۱/۱ و ۱/۱۰ توکسیک بوده و مانع از رشد سوش-های میکروبی نمود. همین نمونه در رقت ۱/۱۰۰ با سوش TA100

نسبت به جدول رفرانس بتوان از حضور و تاثیر آنها در نتایج آزمایش مطلع شد. در ابتدا آزمایشات جهش‌زایی بدون استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسیم صورت گرفت. در این مرحله از آزمون تست Ames نمونه شماره ۱ متعلق به یک خدمه مرد در بخش پاتولوژی بود. این نمونه در رقت‌های ۱/۱ و ۱/۱۰ توکسیک بوده و مانع از رشد سوش-های میکروبی نمود. همین نمونه در رقت ۱/۱۰۰ با سوش TA100

به رقیق‌سازی نمونه، سمیت و جهش‌زایی نمونه فوق مشهود بود و در مرحله بعد با استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسیم نمونه فوق در رقت ۱/۱۰۰ با  $\text{Ratio} > 20$  واجد جهش‌زایی و سمیت بود (جدول ۲ و ۳). نمونه شماره ۲ نیز با استفاده از سوش TA98 و همراه با سیستم فعال‌کننده متابولیسیم در رقت ۱/۵۰ با  $\text{Ratio} \sim 15$  سمیت و جهش‌زایی

نسبت به جدول رفرانس بتوان از حضور و تاثیر آنها در نتایج آزمایش مطلع شد. در ابتدا آزمایشات جهش‌زایی بدون استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسیم صورت گرفت. در این مرحله از آزمون تست Ames نمونه شماره ۱ متعلق به یک خدمه مرد در بخش پاتولوژی بود. این نمونه در رقت‌های ۱/۱ و ۱/۱۰ توکسیک بوده و مانع از رشد سوش-های میکروبی نمود. همین نمونه در رقت ۱/۱۰۰ با سوش TA100



تست مثبت مربوط به نمونه ۱ با شمارش سلولی بالای ۵۰۰ کلنی در پلیت (رقعت ۱/۱۰۰) توسط سوش TA98

تست مثبت مربوط به نمونه ۲ با شمارش سلولی حدود ۴۰۰ کلنی در پلیت (رقعت ۱/۵۰) توسط سوش TA98

نمونه کنترل منفی تست (سوش TA98)

نمونه کنترل منفی تست (سوش TA100)

شکل-۲: پلیت‌های نمونه‌های مثبت و کنترل منفی سوش‌های TA98 و TA100 انکوبه شده در ۳۷ درجه سانتی‌گراد طی ۴۸ ساعت

هود مناسب در زمان مطالعه می‌تواند از عوامل موثر در ایندکس مثبت جهش‌زایی محسوب گردد. در این مطالعه در دو مورد نتایج مثبت جهش‌زایی با استفاده از سوش TA98 همراه با فعال‌کننده متابولیسم و در یک مورد بدون سیستم فعال‌کننده مشهود بود طی مطالعه‌ای در بررسی جهش‌زایی بر روی نمونه پرستارهای تهیه‌کننده داروهای شیمی‌درمانی در مراکز درمانی سرطان نشان داده شد که نتایج حاصل از سویه‌های TA98 در هر دو روش همراه و بدون استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسم معنی‌دار می‌باشد.<sup>۱۱</sup> در مطالعه‌ای بر روی اثرات جهش‌زایی PAH بر روی نانویان، نتایج مثبت از سوش‌های TA98 همراه با سیستم فعال‌کننده گزارش گردیده‌است.<sup>۱۱،۱۲</sup> همچنین با توجه به استفاده از سیستم فعال‌کننده متابولیسم در کسب نتایج مثبت در این سری از آزمایشات به این ترتیب این مواد به‌طور عمده در زمره مواد پیش‌جهش‌زا قرار می‌گیرند. مواد پیش‌جهش‌زاها فی‌نفسه و به‌تنهایی جهش‌زا نیستند ولی تحت تاثیر سیستم متابولیسم انسانی به‌شکل جهش‌زا تبدیل می‌گردند.<sup>۱۲</sup> از جمله این مواد می‌توان به گزیلول اشاره کرد که متابولیت آن 2,6-xylydine به‌عنوان ماده کارسینوژن شناخته شده‌است.<sup>۱۳</sup> از آنجایی‌که در تست‌های بیومانی‌تورینگ جهش‌زایی نتایج مثبت کاذب از طریق بررسی حضور عوامل مداخله‌گر از قبیل استعمال دخانیات و یا دیگر عوامل موثر بر آزمایش مد نظر قرار می‌گیرد<sup>۱۴</sup> در این مطالعه نیز عدم مصرف مواد جهش‌زا قبل از آزمون محرز گردید. سپاسگزاری: بدین‌وسیله از پرسنل و مسئولین سازمان پزشکی قانونی تهران و اساتید گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران در انجام این مطالعه سپاسگزاری می‌نماید.

مشاهده گردید. این نمونه نیز متعلق به یک کارشناس خانم بود که در طول هفته و به‌مدت طولانی به‌علت انجام تهیه لام در معرض مواد سرطان‌زا قرار گرفته بود. همچنین نمونه شماره ۳ متعلق به تکنسین مرد بخش تشریح بود که با توجه به تست جهش‌زایی به‌میزان Ratio:1/85 با سوش TA98 همراه با سیستم فعال‌کننده متابولیسم می‌توان به مشکوک بودن جهش‌زایی آن اشاره داشت (جداول ۲ و ۳).

## بحث

استفاده از آزمون جهش‌زایی در بیومانی‌تورینگ و شناسایی مناطق پرریسک در جهت پیشگیری از سرطان قویاً توصیه شده است.<sup>۹</sup> اهمیت بررسی تست جهش‌زایی عمدتاً در محیط‌های با تماس زیاد با مواد هیدروکربنی چند حلقه‌ای Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) و دیگر ترکیبات سرطان‌زا و متابولیت‌هایشان مانند بنزن مطرح می‌باشد.<sup>۱۱،۱۲</sup> طی آزمایشات صورت گرفته با روش Ames توسط Soraya بر نمونه‌های ادرار کارکنان آزمایشگاه شیمی با میزان تماس زیاد با حلال‌هایی همچون بنزن نتایج مثبت جهش‌زایی در نمونه افراد به‌دست آمد و ریسک ابتلا سرطان و آسیب ژنتیکی در این گروه اعلام گردید.<sup>۷</sup> در مطالعه بصیری در بررسی آزمون جهش‌زایی تعداد ۴۰ نمونه‌ادرار تکنسین‌های آزمایشگاه‌های پاتولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران نتایج مثبت جهش‌زایی ثبت گردید.<sup>۶</sup> در این مطالعه مشخص گردید که در آزمایشگاه‌های پزشکی قانونی موادی از جمله گزیلازین، فرم آلدیید، بنزن و دیگر ترکیبات سرطان‌زا به‌میزان قابل توجه استفاده می‌گردد. طولانی بودن مدت زمان کار در این بخش و عدم استفاده از

## References

1. Mansoori GA, Mohazzab P. Nanotechnology in cancer prevention, detection and treatment: bright future lies ahead. *WRSTSD* 2007; 4: 226-57.
2. Klaunig JE, Kamendulis LM. Chemical carcinogenes. In: Klaassen CD, Amdur MO, Doull J, editors. Casarett and Doull's toxicology. Casarett and Doull's toxicology. New York: McGraw-Hill 2008; 229-379.
3. Hope SR. Occupational cancer. In: Current JL, editor. Current Occupational and Environmental Medicine. Australia: McGraw-Hill Professional; 2007. p. 231.
4. Mortelmans K, Zeiger E. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutat Res* 2000; 455: 29-60.
5. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1988; 11 Suppl 12: 1-157.
6. Rezaei-Basiri M, Samini M, Ghazi-Khansari M, Rezayat M, Sahebgharani M, Partoazar M. Monitoring Ames assay on urine of clinical pathology laboratories technicians. *J Pharmacology and Toxicology* 2008; 3: 230-5.
7. Varella SD, Rampazo RA, Varanda EA. Urinary mutagenicity in chemical laboratory workers exposed to solvents. *J Occup Health* 2008; 50: 415-22.
8. Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* 1983; 113: 173-215.
9. Choi BC, Connolly JG, Zhou RH. Application of urinary mutagen testing to detect workplace hazardous exposure and bladder cancer. *Mutat Res* 1995; 341: 207-16.
10. Benhamou S, Callais F, Sancho-Garnier H, Min S, Courtois YA, Festy B. Mutagenicity in urine from nurses handling cytostatic agents. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1986; 22: 1489-93.
11. Siwińska E, Mielżyńska D, Kapka L. Association between urinary 1-hydroxypyrene and genotoxic effects in coke oven workers. *Occup Environ Med* 2004; 61: e10.
12. Mielyńska D, Braszczyńska Z, Siwińska E, Smolik E, Bubak A, Sokal JA. Exposure of coke-oven workers to polycyclic aromatic hydrocarbons based on biological monitoring results. *Am Ind Hyg Assoc J* 1997; 58: 661-6.
13. Chamberlain PL, Brynes SD. The regulatory status of xylazine for use in food-producing animals in the United States. *J Vet Pharmacol Ther* 1998; 21: 322-9.
14. Dolara P, Mazzoli S, Rosi D, Buiatti E, Baccetti S, Turchi A, et al. Exposure to carcinogenic chemicals and smoking increases urinary excretion of mutagens in humans. *J Toxicol Environ Health* 1981; 8: 95-103.

## Determining urine sample mutagenicity ratio using Ames test: Tehran forensic medicine laboratory personnels

Received: January 17, 2009 Accepted: May 03, 2009

### Abstract

Partoazar A.<sup>1\*</sup>  
Ghazi Khansari M.<sup>1</sup>  
Abedi M H.<sup>2</sup>  
Kaviani M.<sup>2</sup>  
Norashrafeddin S M.<sup>1</sup>  
Basiri M R.<sup>1</sup>  
Talebi M.<sup>1</sup>

1- Department of Pharmacology,  
Scholl of Medicine, Tehran  
University of Medical Sciences  
2- Legal Medicine Organization of  
Tehran

**Background:** Cancer prevention besides detection and treatment has a very important role in control of cancer disease. Since some chemical compounds that are used in laboratories, especially in pathology laboratory are potentially mutagens, lab assistances that are working with chemicals such as Benzene, Xylazine and Formaldehyde for long period of time may be exposed to overload of these carcinogens. Therefore, it is necessary to use an indicator for detecting these occupational exposures. Ames test has been recommended in biomonitoring of environment that has high risk carcinogenicity characteristic.

**Methods:** A total of fifty seven urine samples of forensic medicine laboratory personnel's were extracted by C18 column and then tested by TA100 and TA98 standard strains of Ames assay. Each sample was analyzed with and without activator to detect mutagen and promutagen materials.

**Results:** Levels of mutagenicity were found by TA98 strain without activator in one case as well as with activator in two cases of urine samples of pathology laboratory personnel's. These cases were working in laboratory for long time in all of the workdays.

**Conclusion:** Personnel's working in pathology laboratories may have greater risk of cancer and should be take care from these occupational exposures.

**Keywords:** Ames assay, mutagenicity, forensic medicine.

\* Corresponding author: Dept. of  
Pharmacology, School of Medicine,  
Tehran University of Medical Science,  
Poursina St., Keshavarz Blvd., Tehran,  
IRAN  
Tel: +98-21-66402569  
email: partoazar@yahoo.com