

۱- حنا نه محور، کارشناس علوم آزمایشگاهی و فلوسایتومتریست
۲- دکتر امیر هوشنگ نژاده، دکترای علوم آزمایشگاهی
و عضو انجمن شیمی کلینیکال آمریکا



بررسی لنفوم متل سل به روش فلوسایتومتری و افتراق آن از لوسمی لنفوسیتیک مزمن

علائم و تظاهرات بالینی MCL و CLL

علائم بالینی MCL:

MCL معمولاً در مراحل پیشرفته تشخیص داده می‌شود و می‌تواند علائم زیر را ایجاد کند:

- لنفادنوپاتی (بزرگ شدن غدد لنفاوی): معمولاً بدون درد و در نواحی گردن، زیر بغل یا کشاله ران دیده می‌شود.
- بزرگ شدن طحال (اسپلنومگالی) و کبد (هپاتومگالی): می‌تواند باعث احساس سنگینی یا ناراحتی در شکم شود.
- علائم سیستمیک: شامل تب، تعریق شبانه و کاهش وزن غیرقابل توضیح.
- مشکلات گوارشی: MCL می‌تواند دستگاه گوارش را درگیر کند و باعث اسهال، درد شکم یا خونریزی گوارشی شود.
- ضعف و خستگی: به دلیل کم‌خونی یا تأثیرات بیماری بر بدن ایجاد می‌شود.

علائم بالینی LLC

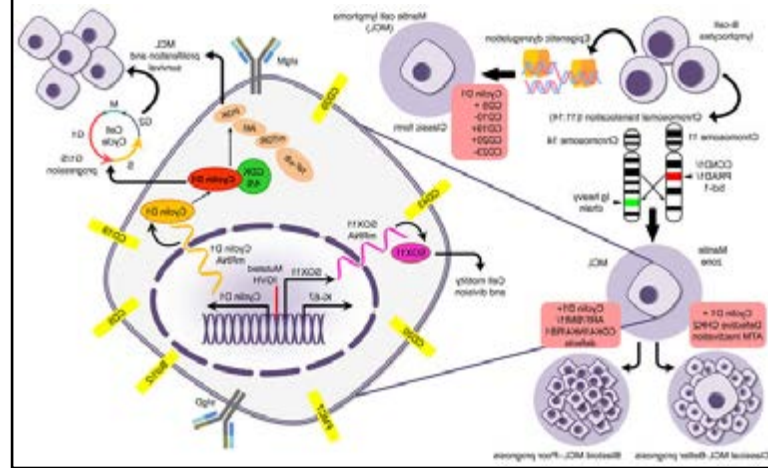
CLL معمولاً یک بیماری آهسته پیش‌رونده و تدریجی است و علائم آن می‌تواند تا سال‌ها خفیف باشد یا حتی بدون علائم باقی بماند. برخی از علائم رایج شامل:

- لنفادنوپاتی: مشابه MCL، اما ممکن است گسترده‌تر و مزمن‌تر باشد.
- خستگی مزمن: به دلیل کم‌خونی یا افزایش شدت بیماری ایجاد می‌شود.

لنفوم متل سل (MCL) یکی از زیرگروه‌های مهم لنفوم‌های غیرهوچکین (NHL) است که از سلول‌های B منشأ می‌گیرد و دارای پیش‌آگهی نامطلوبی است. از سوی دیگر، لوسمی لنفوسیتی مزمن (CLL) شایع‌ترین نوع لوسمی در بزرگسالان است که به صورت تجمع تدریجی لنفوسیت‌های B بالغ اما غیرطبیعی در خون محیطی و مغز استخوان مشاهده می‌شود. با توجه به شباهت‌های ایمنوفنوتایپی بین MCL و CLL، تشخیص افتراقی این دو بیماری چالش برانگیز است. فلوسایتومتری یکی از روش‌های پیشرفته برای بررسی مارکرهای سطحی و سیتوپلاسمی سلول‌های بدخیم است که می‌تواند به افتراق این دو بیماری کمک کند. این مقاله با بررسی ویژگی‌های ایمنوفنوتایپی MCL و CLL، نقش کلیدی فلوسایتومتری را در تشخیص افتراقی این بیماری‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌دهد.

اهمیت تشخیص دقیق MCL و CLL

MCL و CLL هر دو از بدخیمی‌های سلول‌های B محسوب می‌شوند اما این دو بیماری از نظر پاتوفیزیولوژی، پیش‌آگهی و پاسخ به درمان تفاوت‌های چشمگیری دارند. MCL معمولاً یک بیماری تهاجمی با سرعت گسترش بالا است که در صورت عدم تشخیص به موقع، سریعاً پیشرفت می‌کند. در مقابل CLL روند پیشرفت آهسته تری دارد و بسیاری از بیماران ممکن است سال‌ها بدون نیاز به درمان به زندگی خود ادامه دهند. تشخیص دقیق و افتراق صحیح بین این دو بیماری، در انتخاب استراتژی درمانی مناسب و مدیریت روند درمانی بیماران تأثیر قابل توجهی دارد.



کمک کننده است.

سلول های پرولنفوسیتیک و پارایمنوبلاستیک: در برخی موارد CLL (نوع غیر معمول)، ممکن است سلول های پرولنفوسیتی (با هستک برجسته) دیده شوند.

مورفولوژی لنفوسیت ها در MCL

MCL نوعی لنفوم تهاجمی تر است که از سلول های B ناحیه فولیکولی منشأ می گیرد. لنفوسیت های بدخیم در این بیماری دارای ویژگی های مورفولوژیک زیر است:
اندازه متوسط تا بزرگ: برخلاف CLL، سلول های MCL بزرگ تر از گلبول های قرمز هستند و گاهی شباهتی به لنفوسیت های بلاستیک دارند.

هسته نامنظم: برخلاف CLL که هسته گرد و یکنواخت است، در MCL، هسته ها ممکن است چین خورده، نامنظم یا بیضوی باشند.

کروماتین متراکم اما ناهمگون: کروماتین در MCL معمولاً درشت تر و ناهمگن تر از CLL دیده می شود.

هستک های کوچک یا نامشخص: در بیشتر موارد، هستک ها مشخص نیست، اما در برخی زیرگونه های MCL ممکن است دیده شود.

سیتوپلاسم نسبتاً بیشتر از CLL: میزان سیتوپلاسم در مقایسه با CLL کمی بیشتر است و ممکن است حاشیه ی واضح تری داشته باشد.

در MCL، زیرگونه های بلاستیک (Blastoid Variant) ممکن است دارای سلول های بزرگ با هستک برجسته باشند که تهاجمی تر هستند.

این تفاوت های مورفولوژیک، همراه با ایمونوفنوتایپ و آزمایش های مولکولی، نقش مهمی در افتراق این دو بیماری دارند.

۲. ایمونوهیستوشیمی: تشخیص MCL معمولاً با استفاده از رنگ آمیزی Cyclin D1 انجام می شود.

Cyclin D1 یک پروتئین تنظیم کننده چرخه سلولی است. MCL باعث افزایش غیرطبیعی بیان کروموزوم های t(11;14)(q13;q32) می شود. این افزایش منجر به تکثیر بیش از حد Cyclin D1 شده و مقدار زیادی از این پروتئین تولید می شود. در نتیجه سلول های B ناحیه منتل بیش از حد و بدون کنترل تکثیر می شود. ناحیه منتل (Mantle Zone) بخشی از ساختار فولیکول های لنفاوی در غدد لنفاوی است که در اطراف مرکز زاینده (germinal center) یا همان نقطه تکثیر سلول های B قرار دارد. این ناحیه بطور عمده از لنفوسیت های B کوچک و نسبتاً خاموش تشکیل شده است که هنوز وارد فرآیند بلوغ و تمایز آنتی ژنی نشده اند. این سلول ها معمولاً دارای هسته

- عفونت های مکرر: به دلیل نقص عملکرد سلول های ایمنی ایجاد می شود.
- بزرگ شدن طحال و کبد: که می تواند باعث احساس پری و درد شکمی شود.
- علائم سیستمیک: شامل تب، تعریق شبانه و کاهش وزن که در مراحل پیشرفته تر دیده می شود.
- افزایش لنفوسیت های بالغ در آزمایش خون: این یکی از شاخص های اصلی CLL است که اغلب به طور تصادفی در آزمایش خون معمولی کشف می شود.

روش های رایج برای تشخیص MCL و CLL به شرح زیر است:

۱. بررسی مورفولوژی سلول ها: تشخیص افتراقی بین CLL و MCL نه تنها به بررسی ایمونوفنوتایپی، بلکه به تجزیه و تحلیل ویژگی های مورفولوژیک سلول های خونی نیاز دارد. مورفولوژی لنفوسیت ها، علاوه بر ویژگی های هسته و سیتوپلاسم، می تواند در ارزیابی میزان تمایز سلولی، رفتار تهاجمی و میزان پرولیفراسیون این بیماری ها کمک کند.

مورفولوژی لنفوسیت ها در CLL

CLL با تجمع تدریجی لنفوسیت های B کوچک و بالغ در خون محیطی، مغز استخوان و بافت های لنفاوی مشخص می شود. مهم ترین ویژگی های مورفولوژیک این لنفوسیت ها عبارت اند از:
کوچک بودن سلول ها: سلول های CLL معمولاً اندازه کوچکی (تقریباً برابر با گلبول های قرمز یا کمی بزرگ تر) دارد.

هسته یکنواخت و گرد: کروماتین متراکم و یکنواخت در هسته سلول های CLL دیده می شود که به اصطلاح "کلئیدی" یا "خاموش" نامیده می شود.

سیتوپلاسم کم و حاشیه ای: سیتوپلاسم این سلول ها نسبتاً محدود است و در رنگ آمیزی، نازک و حاشیه ای دیده می شود. بدون هستک برجسته: در CLL معمولاً هستک ها دیده نمی شوند یا بسیار کم رنگ هستند.

سلول های شکسته (Smudge): به دلیل شکنندگی غشای سلولی در هنگام تهیه لام خون محیطی، بسیاری از سلول های CLL دچار تخریب مکانیکی شده و به عنوان "Smudge Cells" (سلول های شکسته شده) دیده می شود که در تشخیص CLL

متراکم، سیتوپلاسم کم و تقسیم سلولی اندک هستند. رنگ آمیزی Cyclin D1 یکی از روش های مهم در پاتولوژی و فلوسایتومتری برای تشخیص MCL است. این رنگ آمیزی کمک می کند تا بیان غیرطبیعی این پروتئین در هسته سلول های B شناسایی شود.

۳. فلوسایتومتری: فلوسایتومتری تکنیکی است که با استفاده از آنتی بادی های نشان دار شده با فلوروکروم ها، پروفایل ایمونوفنوتایپی سلول ها را تجزیه و تحلیل می کند. در این روش، سلول ها از یک جریان نازک عبور داده شده و با برخورد لیزر، نور فلورسنت از مارکرهای فلورسنتی که به آنتی ژن های هدف در سطح یا سیتوپلاسم سلول ها متصل هستند ساطع می شود. پس از برخورد لیزر به سلول هایی که با آنتی بادی های کوئوگه شده با فلوروکروم های خاص رنگ آمیزی شده اند، نور فلورسنت از هر فلوروکروم با طول موج مشخص ساطع می شود. این نورها توسط دتکتورهای خاصی دریافت می شود. هر دتکتور به یک طول موج خاص حساس است که متناسب با فلوروکروم های به کاررفته در آزمایش انتخاب می شود. پس از جمع آوری سیگنال های فلورسنت، این داده ها توسط نرم افزارهای تخصصی تحلیل و تفسیر می شود. شدت نور فلورسنت ساطع شده از هر فلوروکروم، نشان دهنده ی میزان بیان مارکر خاصی است که توسط آن آنتی بادی کوئوگه شده است. به عبارت ساده تر، هرچه شدت نور بیشتر باشد بیان آن مارکر روی سطح یا داخل سلول بیشتر است. این اطلاعات به صورت نمودارهایی مثل دات پلات یا هیستوگرام نمایش داده می شود که در آن می توان انواع سلول ها را براساس الگوی بیان مارکرهایشان از یکدیگر تفکیک و شناسایی کرد. این روش با بررسی مارکرهای سطحی و سیتوپلاسمی، یکی از بهترین ابزارهای تشخیصی برای افتراق MCL و CLL محسوب می شود.

۴. روش های مولکولی:

FISH: روشی مولکولی است که تغییرات ژنتیکی مانند جابجایی های کروموزومی، حذف یا افزایش بخش هایی از DNA را مستقیماً روی سلول ها یا برش های بافتی شناسایی می کند. در افتراق MCL و CLL، روش FISH نقش کلیدی دارد به این صورت که در MCL، ترانسلوکیشن کروموزوم های $t(11;14)(q13;q32)$ که منجر به افزایش بیان ژن Cyclin D1 می شود را شناسایی می کند اما در CLL، اختلالات شایعی مانند $del(17p)$ ، $del(11q)$ ، $del(13q)$ و Trisomy 12 را که برای تعیین پیش آگهی و انتخاب درمان مؤثر نقش دارند را شناسایی می کند.

RT-PCR: روشی برای اندازه گیری بیان ژن ها در سطح RNA است. در MCL، از RT-PCR برای بررسی افزایش بیان mRNA ژن Cyclin D1 استفاده می شود ولی در CLL، کاربرد مستقیم کمتری دارد، اما می تواند برای بررسی مارکرهای مولکولی خاص به کار رود.

Real-Time PCR: نسخه ای از PCR است که طی فرآیند تکثیر، به صورت هم زمان میزان DNA یا cDNA را اندازه گیری می کند. در CLL، برای بررسی جهش ژن TP53 و همچنین سطح بیان مارکرهای پیش آگهی مثل ZAP-70 و CD38 کاربرد دارد اما در MCL، می توان از آن برای تایید افزایش بیان Cyclin D1 بهره گرفت.

NGS: روش توالی یابی ژن ها با توان بالا است که امکان شناسایی هم زمان جهش ها، تغییرات ساختاری و بیان ژن ها را فراهم می کند. در NGS، برای بررسی جهش در ژن های مرتبط با پیش آگهی مانند TP53، NOTCH1، SF3B1 و تعیین وضعیت IGHV به کار می رود اما در MCL، کمتر به صورت روتین استفاده می شود، اما می تواند برای بررسی پروفایل ژنتیکی دقیق تر کمک کننده باشد.

Array-CGH: تکنیکی برای بررسی تغییرات ساختاری در ژنوم است.

در CLL، می تواند تغییراتی مثل حذف در 11q، 13q یا 17p را شناسایی کند اما در MCL، کاربرد محدود تری دارد ولی در موارد خاص برای بررسی گسترده ژنومی استفاده می شود.

SNP Array: روشی مشابه Array-CGH است با این تفاوت که علاوه بر بررسی تغییرات در تعداد نسخه های ژنی، می تواند جهش های نقطه ای (SNP) و ناهمگنی های ژنتیکی را نیز شناسایی کند.

در CLL این تکنولوژی می تواند تغییرات ژنتیکی پنهان (Cryptic Aberrations) که با روش های معمول مانند کاریوتایپ یا FISH قابل تشخیص نیستند را شناسایی کند اما در MCL، بیشتر استفاده پژوهشی دارد تا بالینی.

ویژگی های بیولوژیکی MCL و CLL

لنفوم متل سل (MCL)

MCL یک لنفوم بدخیم سلول B است این بیماری عمدتاً در گره های لنفاوی، طحال، مغز استخوان و در برخی موارد دستگاه گوارش دیده می شود. مهم ترین ویژگی مولکولی MCL، جابه جایی کروموزومی $t(11;14)(q13;q32)$ است که منجر به بیان بیش از حد Cyclin D1 می شود. Cyclin D1 نقش مهمی در تنظیم چرخه سلولی دارد و افزایش آن موجب تکثیر غیرقابل کنترل سلول های B بدخیم می شود.

لوسمی لنفوسیتی مزمن (CLL)

CLL شایع ترین نوع لوسمی در افراد بالغ است که با افزایش تعداد لنفوسیت های B کوچک و بالغ در خون، مغز استخوان

و بافت‌های لنفاوی همراه است. برخلاف لنفوم منتل سل، CLL اغلب دارای روند پیشروی کند تری است و بسیاری از بیماران ممکن است تا سال‌ها بدون علائم باقی بمانند. این بیماری معمولاً با بیان بالای CD5 و CD23 مشخص می‌شود و برخلاف MCL، Cyclin D1 در آن بیان نمی‌شود.

ویژگی‌های آزمایشگاهی CLL و LCM

CLL معمولاً در افراد بالای ۶۰ سال دیده می‌شود و در مردان شیوع بیشتری دارد. در بررسی آزمایشگاهی، لنفوسیتوز واضح از مشخصه‌های اصلی بیماری است به طوری که درآزمایش CBC میزان لنفوسیت‌ها به بیش از ۵۵٪ و در بسیاری از بیماران حتی به ۸۰-۹۰٪ هم می‌رسد و گلبول‌های سفید نیز به طور کلی افزایش قابل توجهی دارند و معمولاً تعداد آنها بین ۲۰۰۰۰-۱۵۰۰۰۰ درهرمیکرولیتر است. در خون محیطی لنفوسیت‌های کوچک بالغ با هسته متراکم دیده می‌شوند و وجود "smudge cells" ویژگی نسبتاً اختصاصی CLL محسوب می‌شود. میزان گلبول‌های قرمز ممکن است طبیعی یا کاهش یافته باشد و کاهش پلاکت نیز در مراحل پیشرفته‌تر بیماری مشاهده می‌شود.

در مقابل، MCL نیز عمدتاً در افراد مسن (۶۰ تا ۷۰ سال) و با شیوع بیشتر در مردان بروز می‌کند. برخلاف CLL، لنفوسیتوز در MCL ممکن است وجود داشته باشد ولی معمولاً به شدت CLL نیست. در خون محیطی لنفوسیت‌ها ممکن است نامنظم تر و با هسته‌های شکسته و شکل‌های آتپیک دیده شوند. تعداد گلبول‌های سفید معمولاً افزایش یافته ولی در حد متوسط است و معمولاً تعداد آنها بین ۱۰۰۰۰-۵۰۰۰۰ درهر میکرولیتر خون است. آنمی و ترومبوسیتوپنی در MCL شایع‌تر از CLL است.

"نقش فلوسایتومتری در تشخیص و افتراق MCL از CLL"

مارکرهاي مشترک بین MCL و CLL

CD19 و CD20: نشانگرهای اختصاصی سلول‌های B که در هر دو بیماری بیان می‌شوند.

CD5: مارکری که به‌طور غیرمعمول در هر دو بیماری بیان می‌شود و معمولاً در بدخیمی‌های سلول B دیده نمی‌شود.

مارکرهاي افتراقی MCL و CLL

Cyclin D1: در MCL مثبت و در CLL منفی است. قابل ذکر است که این مارکر جزء مارکرهاي IHC دسته بندی می‌شود و جزء مارکرهاي فلوسایتومتری نیست. بررسی آن برای تشخیص MCL معمولاً بر روی نمونه BMB انجام می‌شود.

CD23: در CLL مثبت و در MCL منفی است یا بیان بسیار کمی دارد و یک ویژگی افتراقی مهم محسوب می‌شود.

FMC7: در MCL مثبت و در CLL منفی است.

CD200: در CLL مثبت و در MCL منفی است یا بیان بسیار کمی دارد. CD200 یک گلیکوپروتئین مهاری است که بیان آن در CLL به سرکوب پاسخ‌های ایمنی و بقا بیشتر سلول‌های B سرطانی کمک می‌کند. در CD200، CLL به‌طور قوی مثبت است که می‌تواند به افتراق آن از سایر بدخیمی‌های سلول B کمک کند. در CD200، MCL منفی یا بیان بسیار کم دارد که می‌تواند به افتراق آن از CLL کمک کند بنابراین یک ویژگی افتراقی مهم محسوب می‌شود.

CD22: در CLL منفی یا بسیار ضعیف بوده و در MCL مثبت است. CD22 یک مارکر اختصاصی سلول‌های B بالغ است که معمولاً در بدخیمی‌های سلول B بیان می‌شود، اما سطح بیان آن در CLL بسیار کم یا منفی است. در مقابل، MCL معمولاً CD22 را بیان می‌کند، اگرچه شدت آن متغیر است بنابراین می‌تواند به افتراق این دو بیماری در فلوسایتومتری کمک کند، اما مارکر اختصاصی نیست و باید در کنار سایر مارکرهاي افتراقی مانند CD23، Cyclin D1 و CD200 بررسی شود.

استراتژی‌های تحلیل فلوسایتومتری برای افتراق

MCL از CLL

۱. بررسی مارکرهاي سطحی (Surface Markers)

ابتدا باید پروفایل مارکرهاي سطحی سلول‌های B را ارزیابی کنیم: **الف) CD5:** از آنجا که CD5 در هر دو بیماری مثبت است، به‌تنهایی افتراق‌دهنده نیست، اما وجود آن کمک می‌کند تا MCL و CLL از سایر بدخیمی‌های سلول B (مانند FL یا MZL) متمایز شوند.

ب) CD19 و CD20: در CLL بیان CD19 و CD20 تا حدودی ضعیف‌تر است درحالی که در MCL، هر دو به‌وضوح قوی‌تر بیان می‌شود.

ج) CD23 (مارکر کلیدی افتراقی): بیان قوی CD23 در CLL به افتراق آن از MCL کمک می‌کند، زیرا در CD23، MCL یا منفی است یا فقط به‌صورت ضعیف بیان می‌شود.

د) CD200 (مارکر مهاری): CD200 در CLL بیان قوی دارد و نقش مهمی در مهار ایمنی و افزایش بقای سلولی ایفا می‌کند. عدم بیان CD200 در MCL یک ویژگی افتراقی مهم محسوب می‌شود.

ه) FMC7 (مرتبط با CD20):

FMC7 در MCL مثبت و در CLL منفی است زیرا این مارکر معمولاً در سلول‌های B با CD20 قوی‌تر بیان می‌شود.

۲. بررسی مارکهای سیتوپلاسمیک

برای تأیید تشخیص، باید رنگ آمیزی داخل سلولی انجام شود:
Cyclin D1 (مارکر تشخیصی کلیدی **MCL Cyclin D1**):
مثبت در MCL به دلیل جهش کروموزومی (t(11;14) دیده می شود
و یکی از مارکهای قطعی برای تشخیص MCL است.

منابع

- "Flow Cytometry in Hematopathology: A Visual Approach to Data Analysis and Interpretation" 1 D.A. Woodruff.
E. Seegmiller. "Flow cytometry in the diagnosis and monitoring of mature B-cell neoplasms" 2-
A. "Differential diagnosis of B-cell chronic lymphoproliferative disorders by flow cytometry" 3- Orfao
4- Flow cytometric analysis of cyclin D1 expression in mantle cell lymphoma. P. McDonnell
5- CD23 expression in mantle cell lymphoma: a multiparameter flow cytometric study. M. Xu
6- Hoffbrand's Essential Haematology- 6th or 7th Edition
7- WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (2017)
8- National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Guidelines
9- Chronic Lymphocytic Leukemia: 2022 Update on Diagnosis, Risk Stratification, and Management
10- Mantle Cell Lymphoma: 2021 Update on Diagnosis and Management
American Journal of Hematology. 2021;96(5):564-577
11-www.nejadeh-lab.com

۳. تحلیل کمی و شدت بیان مارکها

در فلوسایتومتری، علاوه بر حضور یا عدم حضور یک مارکر، شدت بیان (MFI) نیز بسیار مهم است. شدت بیان یک مارکر معمولاً با پارامتر MFI (میانگین شدت فلورسینس) سنجیده می شود که نشان دهنده میانگین میزان اتصال مارکرها به آنتی ژن های هدف موجود در سطح یا سیتوپلاسم سلول ها است.

محدودیت های روش فلوسایتومتری در افتراق MCL از CLL

- در برخی موارد، بیان CD23 ممکن است در MCL مشاهده شود که باعث اشتباه در تشخیص می شود.
- در برخی از موارد غیرمعمول CLL می توانند ویژگی های مشابهی با MCL داشته باشند.

نتیجه گیری

فلوسایتومتری یک ابزار قدرتمند برای افتراق MCL از CLL است و با استفاده از مارکهای کلیدی مانند CD23، CD200، Cyclin D1، و FMC7 می توان تشخیص دقیقی ارائه داد. ترکیب این روش با سایر روش های مولکولی می تواند دقت تشخیصی را افزایش دهد.

فرم اشتراک ماهنامه تخصصی ریاضیات

نام و نام خانوادگی: رشته تخصصی: کد ملی:
نام محل کار: مسئولیت:
نشانی:
کد پستی: تلفن: فاکس:
موبایل: ایمیل:

♦ تکمیل تمام موارد فوق الزامی است ♦

(تهران)

(پشت پیشناز)

اشتراک ۶ ماهه ۱,۰۵۰,۰۰۰ تومان
اشتراک یکساله ۲,۱۰۰,۰۰۰ تومان

اشتراک ۶ ماهه ۹۰۰,۰۰۰ تومان
اشتراک یکساله ۱,۸۰۰,۰۰۰ تومان

مبلغ اشتراک یکساله خارج از کشور با پست سفارشی ۵۰۰ دلار است.

لطفاً برای شروع یا تمدید اشتراک، رسید فیش واریزی را همراه با فرم تکمیل شده فوق به شماره زیر واتساپ نمایید.

کارت پانک پاسارگاد به شماره کارت ۷۲۲۴ ۸۴۸۷ ۲۹۱۰ ۵۰۲۲ و شماره حساب ۱ ۱۲۰۸۴۲۳۴ ۸۰۰۰ ۲۰۶ به نام آقای محمود اصلانی

ایمیل: matashukhis@gmail.com / واتساپ: ۹۱۲۷۳۳۳۴۰۷-۰۹۳۱۰۸-۸۶۰۹۸۷۵۰۱-۰۳۸۸۹۸۷۵۰۱