

مقایسه مناطق سازمان دهنده نقره دوست هستک در تیروئید طبیعی، گواتر گره دار و نئوپلاسم های تیروئید

دکتر فروغ هاشمی^I

دکتر پروانه ناصرالاسلامی^{II}

چکیده

مناطق سازمان دهنده نقره دوست هستک (AgNOR) (Argyrophilic nucleolar organizer regions) حلقه هایی از دی ان آی ریبوزومی (rDNA) درون هستک و پروتئین های وابسته به آنها هستند که اخیراً مورد توجه و بررسی قرار گرفته اند. با استفاده از یک روش رنگ آمیزی با املاح نقره که بر روی برشهای بافتی تهیه شده از قطعه های پارافینی شده (Paraffined) انجام می شود، مناطق فوق به صورت نقاط سیاه رنگی به قطر حدود ۰/۵ تا ۱ میکرون درون هستک ظاهر می شوند.

در این مطالعه، نقاط AgNOR در ضایعات مختلف تیروئیدی مورد شمارش قرار گرفتند. برای این کار نمونه های تهیه شده از تیروئید ۷۳ بیمار شامل ۱۶ مورد تیروئید طبیعی، ۱۹ مورد گواتر، ۲۱ مورد آدنوم و ۱۷ مورد کارسینوم مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین $\pm$ انحراف معیار تعداد نقاط AgNOR در تیروئید طبیعی $1/45 \pm 0/21$ ، گواتر گره دار (Nodular) $1/60 \pm 0/29$ ، آدنوم $1/79 \pm 0/42$ ، کارسینوم (به طور کلی) $1/78 \pm 0/28$ ، کارسینوم پستانچه ای (Papillary) $1/59 \pm 0/31$ ، کارسینوم کیستکی (Follicular) $2/10 \pm 0/12$ و کارسینوم میان توئی (Medullary) $2/22 \pm 0/32$ بود.

بررسی یافته های به دست آمده نشان می دهد که میانگین تعداد نقاط AgNOR در تیروئید طبیعی از همه موارد کمتر است و به ترتیب در کارسینوم پستانچه ای (Papillary)، گواتر گره دار (Nodular)، کارسینوم (به طور کلی)، آدنوم، کارسینوم کیستکی (Follicular) و کارسینوم میان توئی (Medullary) افزایش می یابد. در مقایسه آماری به کمک آزمون تی استودنت (Student's t test) مشخص شد که شمارش نقاط AgNOR در آدنوم و کارسینوم به طور معنی داری بیشتر از تیروئید طبیعی می باشد (در هر دو مورد $P > 0/05$) ولی اختلاف سایر گروه ها معنی دار نمی باشد ($P < 0/05$). به علاوه، با توجه به همپوشانی (Overlap) قابل توجهی که بین گروه های فوق مشاهده می شود، به نظر می رسد که استفاده از شمارش نقاط AgNOR بر روی برشهای تهیه شده از قطعه های پارافینی شده (Paraffined) ضایعات تیروئید، از نظر تشخیصی، در افتراق ضایعات خوش خیم و بدخیم زیاد کمک کننده نمی باشد.

کلیدواژه ها: ۱- مناطق سازمان دهنده نقره دوست هستک (Argyrophilic nucleolar organizer regions)

۲- بیماری های تیروئید ۳- تشخیص ۴- تشخیص آزمایشگاهی

این مقاله خلاصه ای از پایان نامه «ناصرالاسلامی، پروانه، بررسی و مقایسه AgNOR در تیروئید طبیعی، گواتر ندولر، نئوپلاسم های تیروئید در مرکز آموزشی - درمانی شهید دکتر رهنمون در سال ۶۵ تا ۷۵ (پایان نامه دکتری تخصصی آسیب شناسی)، به راهنمایی دکتر فروغ هاشمی. تهران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، دانشکده پزشکی، ۱۳۷۸». می باشد.

(I) استادیار آسیب شناسی، بیمارستان فیروزگر دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، خیابان ولیعصر، پائین تر از میدان ولیعصر، خیابان شهید علی ولدی، تهران (مؤلف مسئول)

(II) دستیار آسیب شناسی، بیمارستان فیروزگر دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران

مقدمه

در چند سال اخیر بررسی مناطق سازمان دهنده نقره دوست هستک (*Argyrophilic nucleolar organizer regions*) مورد توجه قرار گرفته است. در مطالعات مختلف ارزش رنگ آمیزی AgNOR در تشخیص یا تعیین پیش آگهی بیماریهایی مانند لنفوم^(۲)، ضایعات ملانینی (*Melanotic*) پوست^(۳)، مزوتلیوم پرده جنب (*Pleura*)^(۱) و تومورهای پستان^(۱۲) مورد ارزیابی قرار گرفته است. ارزش رنگ آمیزی AgNOR در تشخیص ضایعات تیروئیدی نیز مورد بررسی قرار گرفته است اما نتایج به دست آمده در مطالعات مختلف متفاوت و حتی متضاد بوده است. به طور کلی می توان گفت که افتراق آسیب شناختی (*Pathological*) ضایعات خوش خیم و بدخیم تیروئید از یکدیگر، بخصوص افتراق آدنوم کیستکی (*Follicular*) از کارسینوم کیستکی (*Follicular*)، با استفاده از روشهای موجود مشکل می باشد. با توجه به فراوانی بیماریهای تیروئیدی در کشور ما، یافتن یک روش تشخیصی مناسب برای افتراق این ضایعات از یکدیگر ضروری به نظر می رسد. به همین جهت برای اینکه روشن شود آیا استفاده از این روش رنگ آمیزی نسبتاً ساده می تواند کمکی به تشخیص آسیب شناختی (*Pathological*) ضایعات تیروئید بکند یا نه، مطالعه حاضر را بر روی ۷۳ نمونه از ضایعات تیروئید انجام دادیم.

روش بررسی

نمونه ها به طور غیر احتمالی و آسان و با بررسی مدارک موجود در بیمارستان شهید رهنمون تهران انتخاب شدند. برای این کار نمونه های تهیه شده از غده تیروئید بیمارانی که از سال ۱۳۶۵ تا ۱۳۷۵ در بخش آسیب شناسی این بیمارستان پذیرش شده بودند مورد بررسی قرار گرفت و مواردی که با تشخیص تیروئید طبیعی، گواتر گره دار (*Nodular*)، آدنوم تیروئید و تومورهای بدخیم تیروئید ثبت شده بود، مشخص گردید. در مجموع ۷۳ نمونه شامل ۱۶ مورد تیروئید طبیعی، ۱۹ مورد گواتر گره دار (*Nodular*)، ۲۱ مورد آدنوم و ۱۷ مورد انواع کارسینوم تیروئید (۱۱ مورد کارسینوم پستانچه ای

[*Papillary*], ۴ مورد کارسینوم کیستکی [*Follicular*] و ۲ مورد کارسینوم میان توئی [*Medullary*] تهیه شد. کلیه نمونه های فوق مجدداً بررسی شد و تشخیصهای قبلی تأیید گردید.

پس از جدا کردن قطعه های پارافینی شده (*Paraffined*) نمونه های مورد نظر، رنگ آمیزی AgNOR طبق روش ارائه شده توسط پلوتون (*Pluton*) و همکاران^(۸) به این ترتیب انجام شد: (۱) تهیه برشهایی به ضخامت ۳ میکرون از قطعه های پارافینی شده (*Paraffined*) (۲) بی پارافین (*Deparaffinized*) کردن در گزیلول به مدت ۲۰ دقیقه (۳) بازآبدهی (*Rehydration*) در غلظت های کاهش یافته اتانول (۴) شستشو در آب مقطر دوبار تقطیر (۵) رنگ آمیزی با مخلوطی از: الف - محلول ۲٪ ثلاثین و ۱٪ اسیدفرمیک در آب مقطر و ب - محلول ۵۰٪ نترات نقره در آب مقطر به نحوی که بلافاصله قبل از رنگ آمیزی یک قسمت از محلول «الف» و دو قسمت از محلول «ب» با هم مخلوط می شدند (رنگ آمیزی به مدت ۶۰ دقیقه و در تاریکی انجام می شد) (۶) شستشو با آب مقطر دو بار تقطیر، ۴ بار و هر بار ۵ دقیقه (۷) نگهداری محلول ۵٪ تیوسولفات سدیم به مدت ۵ دقیقه (۸) آب گیری (*Dehydrating*) در غلظت های افزایش یافته اتانول (۹) سوار کردن نمونه روی لام (*Mounting*).

لام هایی که به طریق فوق تهیه شدند، به وسیله میکروسکوپ نوری با عدسی غوطه ای روغنی (*Oil-immersion lens*) و با بزرگنمایی ۱۰۰۰ مورد مطالعه قرار گرفتند. در هر لام، قسمتی که نشان دهنده ضایعه مورد نظر بود مشخص گردید. سپس تعداد نقاط AgNOR که به طور مجزا از هم درون هر هسته دیده می شد، در ۱۰۰ سلول شمارش گردید. آنگاه میانگین تعداد نقاط AgNOR در سلول برای هر لام به طور جداگانه محاسبه شد.

ضایعات بر حسب تشخیص آسیب شناختی (*Pathologic*) به گروه های مختلف تقسیم شده، در هر گروه میانگین تعداد نقاط AgNOR در هسته، انحراف معیار (*Standard deviation [SD]*) و ضریب تغییرات (*Coefficient of variation [CV]*) محاسبه گردید.

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از شمارش نقاط AgNOR در نمونه‌های تهیه شده از تیروئید ۷۳ بیمار، در جدول ۱ و پراکندگی میانگین تعداد نقاط AgNOR در نمونه‌های مختلف در نمودار ۱ آورده شده است. در شکل ۱ نمونه حاصل از آدنوم تیروئید با رنگ آمیزی AgNOR و بزرگنمایی ۱۰۰۰ و در شکل ۲ نمونه حاصل از کارسینوم کیسکی (Follicular) تیروئید با رنگ آمیزی AgNOR و بزرگنمایی ۱۰۰۰ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، میانگین تعداد نقاط AgNOR در تیروئید طبیعی از همه موارد کمتر است و به ترتیب در کارسینوم پستانچه‌ای (Papillary)، گواتر گره‌دار (Nodular)، کارسینوم (به طور کلی)، آدنوم، کارسینوم کیسکی (Follicular) و کارسینوم میان‌توئی (Medullary) افزایش می‌یابد. مقایسه آماری این نقاط با آزمون تی‌استیودنت (Student's t test) مستقل نشان می‌دهد که شمارش تعداد نقاط AgNOR در آدنوم، کارسینوم (به طور کلی)، کارسینوم کیسکی (Follicular) و کارسینوم میان‌توئی (Medullary) به طور معنی‌داری بیشتر از تیروئید طبیعی است (در کلیه موارد $P > 0.05$). ولی اختلاف بین هیچ یک از گروه‌های دیگر معنی‌دار نیست (در مقایسه گواتر گره‌دار [Nodular] و تیروئید طبیعی $P > 0.05$ ، در مقایسه کارسینوم و آدنوم $P < 0.05$ و آدنوم و کارسینوم کیسکی [Follicular] $P > 0.05$). در ضمن همان‌گونه که در جدول ۱ و نمودار ۱ دیده می‌شود، تداخل و همپوشانی (Overlap) قابل توجهی بین تمام گروه‌ها، از جمله آدنوم و کارسینوم (همین‌طور آدنوم و کارسینوم کیسکی [Follicular]) مشاهده می‌شود.

شکل ۱ نمونه حاصل از رنگ‌آمیزی AgNOR در آدنوم تیروئید و شکل ۲ نمونه حاصل از رنگ‌آمیزی AgNOR در کارسینوم کیسکی (Follicular) تیروئید را نشان می‌دهد. بررسی شکل و اندازه AgNOR به وسیله میکروسکوپ نوری نشان داد که در تیروئید طبیعی و گواتر گره‌دار (Nodular) نقاط AgNOR عموماً کوچک، منظم و یکنواخت هستند. در مورد آدنوم در اکثر موارد AgNOR ها کوچک بودند ولی در برخی از

نمونه‌ها، نقاط AgNOR درشت‌تر بودند. در کارسینوم‌های کیسکی (Follicular)، در همه موارد، نقاط AgNOR بزرگ بوده، اشکال نامنظمی داشتند. همچنین، این نقاط دارای اختلاف زیادی از نظر اندازه و شکل بودند. در کارسینوم میان‌توئی (Medullary) نیز تفاوت زیادی در شکل و اندازه AgNOR ها وجود داشت. در کارسینوم پستانچه‌ای (Papillary)، به علت نمای شیشه مات (Ground glass) و روشن بودن هسته، AgNOR هائی که مشاهده می‌شدند اغلب در هسته به صورت کناری و نزدیک غشاء هستک قرار داشتند.

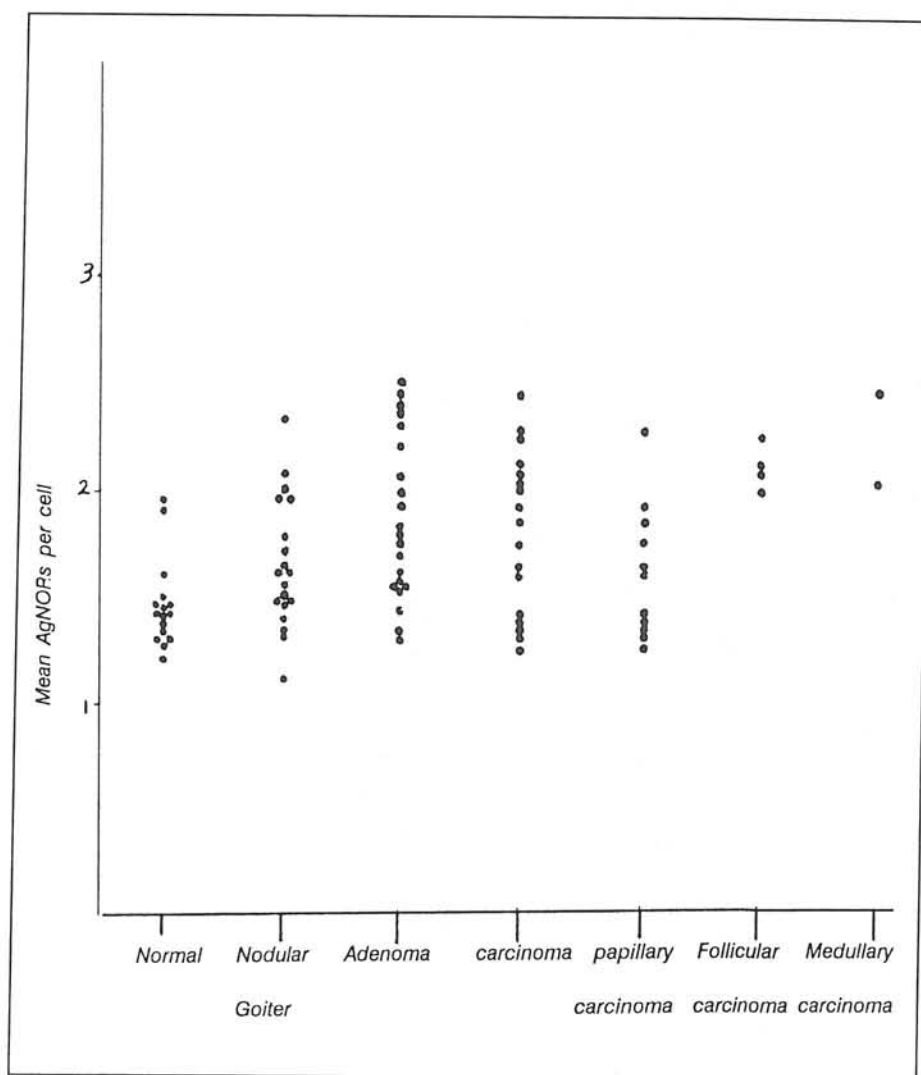
بحث

مناطق سازمان‌دهنده نقره‌دوست هستک (Argyrophilic nucleolar organizer regions [AgNOR]) حلقه‌هائی از دی‌ان‌آی ریبوزومی و پروتئین‌های اسیدی وابسته به آنها هستند که در هستک سلول قرار دارند. این مناطق اهمیت اساسی در ترجمه دی‌ان‌آی به آر‌ان‌آی ریبوزومی و در نتیجه در ساختن پروتئین‌ها دارند و بر روی ۵ جفت کروموزوم سَرمیان (Acrocentric) ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۱ و ۲۲ قرار گرفته‌اند^(۶). پروتئین‌های وابسته به مناطق سازمان‌دهنده هستک (Nucleolar organizer regions [NOR]) شامل حدود ۷۰ نوع پروتئین مختلف هستند که مهمترین آنها B23، C23 (نوکلئولین [Nucleolin]) و آر‌ان‌آی پلیمراز I می‌باشند^(۶). نشان داده شده است که قسمتهائی از همین پروتئین‌ها مسئول رنگ‌پذیری AgNOR با نقره هستند^(۱۳). در ضمن ارتباط AgNOR و این پروتئین‌ها با فعالیت تکثیر سلولی نشان داده شده است^(۵،۴). روسل (Roussel) و همکاران^(۹) نشان دادند که فقط NOR هائی که نقره‌دوست هستند، عمل نسخه‌برداری (Transcription) را انجام می‌دهند و میزان فعالیت نسخه‌برداری (Transcription) بستگی به میزان دی‌ان‌آی ریبوزومی (rDNA) در حال نسخه‌برداری دارد.

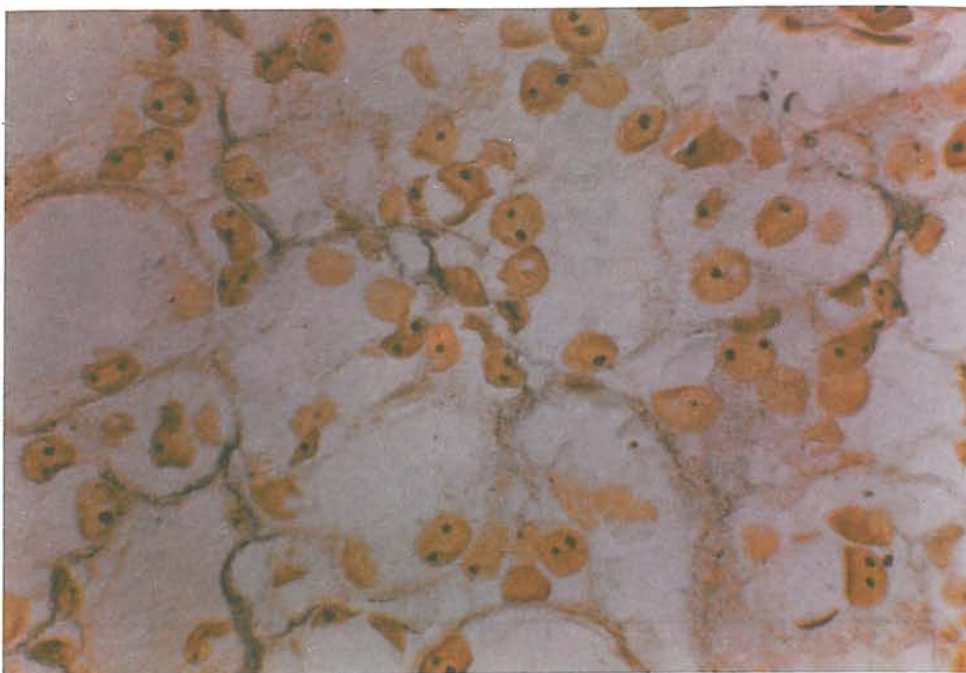
برای ارزیابی AgNOR روشهای متعددی به کار رفته است از جمله: (۱) شمارش میانگین تعداد نقاط AgNOR در هسته سلول به وسیله میکروسکوپ نوری یا به وسیله دستگاه رقمی (Digital) تحلیل (Analysis) تصویر (۲) اندازه‌گیری میانگین

جدول ۱- نتایج به دست آمده از شمارش نقاط AgNOR در نمونه‌های تهیه‌شده از تیروئید ۷۳ بیمار

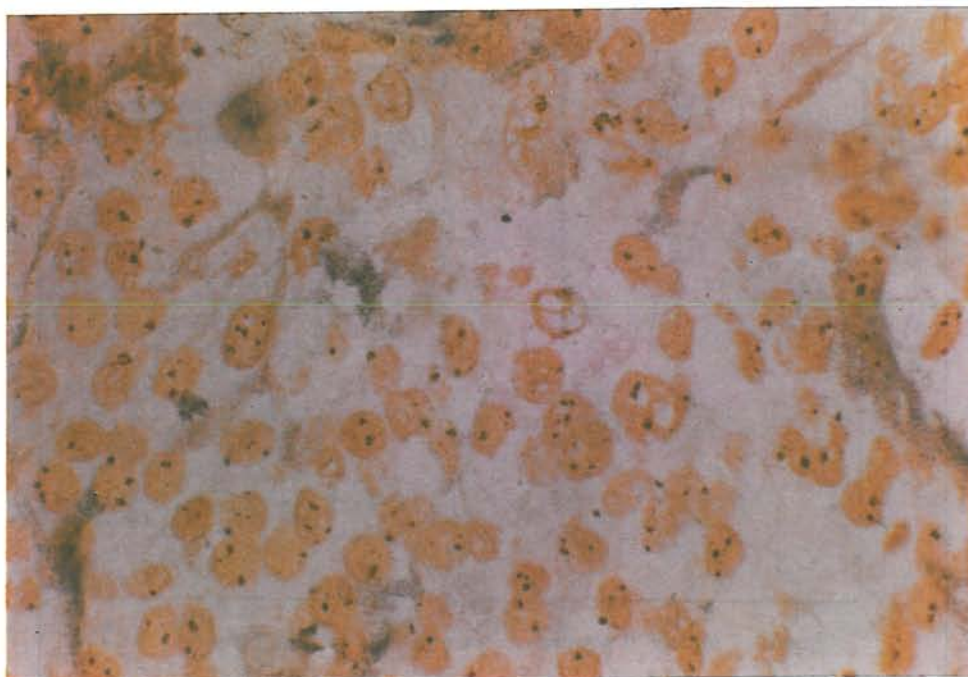
تعداد	میانگین نقاط	دامنه تغییرات	انحراف معیار	ضریب تغییرات (%)
AgNOR				
۱۶	۱/۴۵	۱/۹۵-۱/۲۰	۰/۲۱	۱۴
۱۹	۱/۶۰	۲/۳۳-۱/۱۱	۰/۲۹	۱۸
۲۱	۱/۷۹	۲/۵-۱/۰۹	۰/۴۲	۲۳
۱۷	۱/۷۸	۲/۴۴-۱/۲۳	۰/۳۸	۲۱
۱۱	۱/۵۹	۲/۲۵-۱/۲۳	۰/۳۱	۱۹
۴	۲/۱۰	۲/۲۲-۱/۹۹	۰/۱۲	۵
۲	۲/۲۲	۲/۴۴-۲	۰/۳۲	۱۴
تیروئید طبیعی				
گواتر				
آدنوم				
کارسینوم (به‌طور کلی)				
- پستانچه‌ای (Papillary)				
- کیسکی (Follicular)				
- میان‌توئی (Medullary)				



نمودار ۱- پراکندگی میانگین نقاط AgNOR در نمونه‌های تهیه‌شده از تیروئید ۷۳ بیمار



شکل ۱- آدنوم تیروئید، رنگ‌آمیزی *AgNOR* با بزرگنمایی ۱۰۰۰



شکل ۲- کارسینوم کیسکی (Follicular) تیروئید، رنگ‌آمیزی *AgNOR* با بزرگنمایی ۱۰۰۰

سطح AgNOR (با استفاده از تحلیل [Analysis] رقمی [Digital] تصویر). در برخی از مطالعات، ذکر شده است که اندازه‌گیری سطح AgNOR بهتر از تعداد نقاط AgNOR می‌تواند در افتراق ضایعات خوش خیم و بدخیم کمک‌کننده باشد (۱۰).

بررسی یافته‌های به دست آمده از تحقیق حاضر که بر روی نمونه‌های تهیه شده از تیروئید ۷۳ بیمار انجام شده، نشان می‌دهد که میانگین تعداد نقاط AgNOR در نئوپلاسم‌های تیروئید (خوش خیم و بدخیم) به طور معنی‌داری بیشتر از تیروئید طبیعی است ولی از نظر آماری اختلاف بین سایر گروه‌های فوق از جمله آدنوم و کارسینوم تیروئید معنی‌دار نمی‌باشد. با توجه به همپوشانی (Overlap) قابل توجه در شمارش نقاط AgNOR در کلیه گروه‌های فوق، به نظر می‌رسد که استفاده عملی از میانگین تعداد نقاط AgNOR برای افتراق ضایعات خوش خیم و بدخیم تیروئید، به عنوان یک روش تشخیصی، کمک‌کننده نیست.

یافته فوق با نتایج تحقیق شم تو (Shem-Tov) و همکاران (۱۱) که اختلاف بین آدنوم و کارسینوم را معنی‌دار گزارش کرده‌اند، در تضاد است. البته در این مطالعه اشاره‌ای به دامنه تغییرات (Range)، میانگین تعداد نقاط AgNOR و همپوشانی (Overlap) احتمالی بین گروه‌های مختلف نشده است و فقط میانگین گروه‌های مختلف با هم مقایسه شده‌اند. در حالی که برای استفاده از این روش، به عنوان یک روش تشخیصی، نکات فوق حتماً باید مورد توجه قرار گیرد. یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج به دست آمده توسط نایرن (Nairn) و همکاران (۷) همخوانی و مشابهت دارد.

مهمترین محدودیت تحقیق حاضر، در اختیار نداشتن دستگاه رقمی (Digital) تحلیل (Analysis) تصویر می‌باشد زیرا با استفاده از این وسیله علاوه بر شمارش میانگین تعداد نقاط AgNOR می‌توان سطح نقاط AgNOR را نیز محاسبه نمود.

نتیجه

یافته‌های به دست آمده از مقایسه میانگین تعداد نقاط AgNOR در تیروئید طبیعی، گواتر گره‌دار (Nodular) و نئوپلاسم‌های خوش خیم و بدخیم تیروئید نشان می‌دهد که میانگین تعداد نقاط AgNOR در نئوپلاسم‌های تیروئید (شامل آدنوم و کارسینوم) بیشتر از تیروئید طبیعی است. تحلیل آماری

نشان می‌دهد که گرچه تعداد نقاط AgNOR در آدنوم و کارسینوم به طور معنی‌داری بیشتر از تیروئید طبیعی است ولی اختلاف بین سایر گروه‌ها از جمله آدنوم و کارسینوم معنی‌دار نمی‌باشد. به علاوه، با توجه به تداخل و همپوشانی (Overlap) تعداد نقاط AgNOR در ضایعات فوق، به نظر می‌رسد استفاده از این روش بر روی قطعه‌های پارافینی شده (Paraffined) ضایعات خوش خیم و بدخیم تیروئید، به عنوان یک وسیله تشخیصی، زیاد کمک‌کننده نیست. البته، به کارگیری این روش بر روی گستره‌های سلولی، بررسی ضایعات خوش خیم و بدخیم سایر اعضا و همچنین استفاده از دستگاه رقمی (Digital) تحلیل (Analysis) تصویر جهت محاسبه سطح نقاط AgNOR می‌تواند زمینه تحقیقات بیشتری را فراهم کند.

منابع

- 1) Ayres JG, Crocker J, Skilbeck NQ: Differentiation of malignant from normal and reactive mesothelial cells using the argyrophil technique for nucleolar organizer regions. Thorax 43: 366-370, 1988.
- 2) Crocker J, Nar P: Nucleolar organizer regions in lymphomas. J Pathol 151: 111-118, 1987.
- 3) Crocker J, Skilbeck N: Nucleolar organizer region associated proteins in cutaneous melanotic lesions: a quantitative study. J Clin Pathol 40(8): 885-889, 1987.
- 4) Derenzini M, Pession A, Trer`e D: The quantity of nucleolar silver-stained proteins is related to proliferating activity in cancer cells. Lab invest 63(1): 137-140, 1990.
- 5) Derenzini M, Trer`e D: AgNOR protenis as a parameter of the rapidity of cell proliferation. Zentralbl Pathol 140(1): 7-10, 1994.
- 6) McGee J, Isaacson P, Wright N: Oxford Textbook of Pathology. Oxford: Oxford University Press, 1992. pp 586-589.
- 7) Nairn ER, Crocker J, McGovern J: Limited

value of AgNOR enumeration in assessment of thyroid neoplasm [letter]. *J Clin Pathol* 41(10): 1136, 1988.

8) Ploton D, Menager M, Jeannesson P, et al: Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J* 18: 5-14, 1986.

9) Roussel P, andr e C, Comai L, Hernandez-Verdun D: The rDNA transcription machinery is assembled during mitosis in active NORs and absent in inactive NORs. *J Cell Biol* 133(2): 235-246, 1996.

10) Ruschoff J, Prasser C, Cortez T, et al:

Diagnostic value of AgNOR staining in follicular cell neoplasms of the thyroid: comparison of evaluation methods and nucleolar features. *Am J Surg Pathol* 17(12): 1281-1288, 1993.

11) Shem-Tov Y, Straus M, Talmi YP, et al: Nucleolar organizer regions in follicular tumors of the thyroid. *Head Neck* 16(5): 420-423, 1994.

12) Smith J, Crocker J: Evaluation of nucleolar organizer regions associated proteins in breast malignancy. *Histopathology* 12: 113-125, 1988.

13) Valder B, Henning D: Specific aspartic acid-rich sequences are responsible for silver staining of nucleolar proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 207(2): 485-491, 1995.

COMPARISON OF ARGYROPHILIC NUCLEOLAR ORGANIZER REGIONS IN NORMAL THYROID, NODULAR GOITER AND THYROID NEOPLASMS

F. Hashemi, MD^I

P. Nasseroleslami, MD^{II}

ABSTRACT

Argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) are loops of ribosomal DNA in the nucleolus and are associated with acidic proteins that have a high affinity for silver.

In this study, the mean AgNOR counts were evaluated in specimens. Seventy three specimens were examined, including 16 normal thyroids, 19 nodular goiters, 21 follicular adenomas and 17 thyroid carcinomas (11 papillary, 4 follicular carcinomas, and 2 medullary carcinomas). The specimens were stained, using modified AgNOR staining method.

It has been shown that mean AgNOR count increases from normal thyroid (1.45 ± 0.21) to papillary carcinoma, nodular goiter (1.60 ± 0.29), thyroid carcinoma (total) (1.78 ± 0.38), follicular adenoma (1.79 ± 0.42), follicular carcinoma (2.10 ± 0.12) and medullary carcinoma (2.22 ± 0.32) (mean $\pm$ SD). But, statistical analysis of the above findings, using unpaired Student's t test showed that mean AgNOR counts in adenoma and carcinoma are significantly higher than normal thyroid ($P < 0.05$), but the difference between other groups was not significant.

There was also significant overlap in mean AgNOR counts of these groups. It can be concluded from these results that the mean AgNOR counts may have no diagnostic value in differentiating benign and malignant lesions of thyroid on paraffin embedded sections.

Key Words: 1) Thyroid diseases

3) AgNOR

5) Laboratory diagnosis

2) Argyrophilic nucleolar Organizer regions

4) Diagnosis

I) Assistant Professor of Pathology, Firuzgar Hospital, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Valadi St., Valiasr Sq., Tehran, Iran (Corresponding author)

II) Resident of Pathology, Firuzgar Hospital, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran