فیبروز کبد و عوامل مؤثر بر آن

● دکتر داریوش فرهود

متخصص ژنتیک پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه علوم پایه / اخلاق، فرهنگستان علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات سلامت سالمندی، کلینیک ژنتیک

● پریسا ورجاوند*(correspond)

کارشناس ارشد ژنتیک، مرکز تحقیقات سلامت سالمندی، کلینیک ژنتیک

❑ چکیده

کبد به عنوان بزرگ‌ترین ارگان بدن، نقش حیاتی در متابولیسم، سم زدایی، حفظ هموستاز، سنتز و ذخیره سازی مواد غذایی و دفاع در برابر ماکرو مولکول‌های مهاجم را دارد. بیماری‌های کبدی می‌تواند به دلیل عوامل اگزوژن، مانند مصرف الکل، مصرف داروها، القای سموم و ابتلا به عفونت‌ها و یا عوامل اندوژن، مانند سندرم‌های متابولیکی، بیماری‌های خود ایمنی و ژنتیکی ایجاد شوند. با اعمال آسیب‌ها، کبد وارد اولین مرحله بیماری یعنی کبد چرب غیر الکلی[1](NAFLD) شده که در لیز و شکست چربی دچار مشکل می‌شود که اگر با التهاب همراه باشد، منجر به استئاتوهپاتیت غیر الکلی (NASH) می‌شود. در صورت ادامه روند بیماری و عدم درمان، (آسیب‌های مداوم و مزمن) کبد وارد مرحله پیشرفته‌تری از بیماری، یعنی فیبروز می‌شود. میزان تجمع ماتریکس خارج سلولی و تولید کلاژن تایپ I، III و IV در طی فیبروز تا ده برابر افزایش می‌یابد و با گذشت زمان، منجر به سیروز، هپاتوسلولار کارسینوما[2] (HCC) و به دلیل نقص در عملکرد کبد، منجر به مرگ بیمار می‌شود. سلول‌ها و مسیرهای التهابی متعددی در ایجاد فیبروز کبد دخیل هستند. روش‌های درمانی احتمالی و پیش بالینی به منظور درمان فیبروز کبد، گزارش شده است، اما هنوز روش‌های قطعی برای درمان و برگشت‌پذیری بیماری در انسان اثبات نشده است.

واژگان کلیدی: فیبروز کبد، کموکاین CCL2، کموکاین CX3CL1، سلول‌های ستاره مانند کبدی، رسپتور، سلول‌درمانی

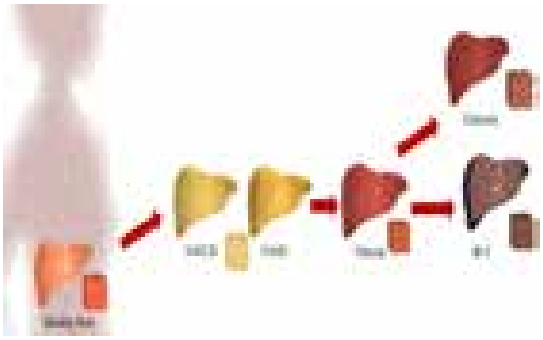
❑ سرآغاز

سالانه، ۱،۴۰۰،۰۰۰ نفر در سراسر جهان به دلیل بیماری‌های کبدی جان خود را از دست می‌دهند. در ایران، بیش از ۲۵٪ مردم ایران به بیماری‌های کبدی مبتلا هستند. لازم به ذکر است که ۸۰٪ افراد از وجود بیماری در خود بی خبر هستند و زمانی متوجه بیماری خود می‌شوند که بیماری آن‌ها حاد شده است. آسیب‌های وارد شده به کبد در نتیجه مواردی چون مسمومیت با الکل، بیماری‌های خود ایمنی، بیماری‌های متابولیکی، هپاتیت ویروسی یا القای سموم، موجب فیبروز کبد می‌شوند. فیبروز کبدی منجر به فعال شدن سلول‌های ستاره مانند کبدی[3] (HSC)، اختلال عملکرد کبد و تجمع پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی[4] می‌شود که با گذشت زمان این حالت پاتولوژیک منجر به سیروز و سایر پیامدهای بالینی مانند سرطان کبد و مرگ در اثر نقص عملکرد کبد می‌شود (شکل ۱). نسبت

1- Non-alcoholic fatty liver disease
2- Hepatocellular carcinoma
3- Hepatic Stellate Cell
4- Extra Cellular Matrix

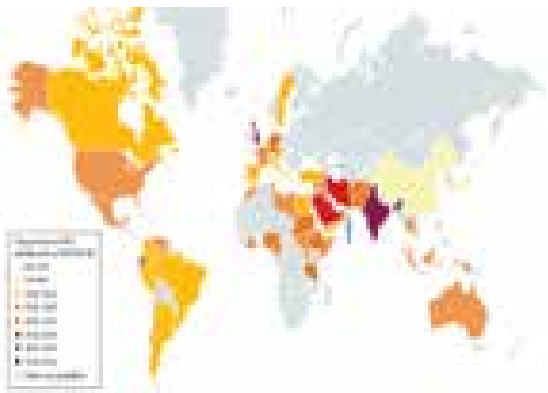
[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-19]

سـرطان کبد اولیه که احتمالاً ناشی از NAFLD است در انگلیس، هند، آلمان و خاورمیانه نسـبتاً بالا گزارش شـده است (شکل ۲). امروزه مشخص شده است که فیبروز کبدی به عنوان یک پاسـخ التیام دهنده زخم محسـوب می‌شود (۴-۱). مسـیرهای التهابـی و سـلول‌های ایمنـی مانند سـلول‌های کوپفرسل و سلول‌های سـتاره مانند کبدی در محل آسـیب نقش مهمی در شـروع و تـداوم فیبروز کبد دارند (۵،۶). سلول‌های سـتاره‌ای کبدی که در فضایی در کبـد، تحت عنوان دیس[5] قرار گرفته‌اند، حاوی ذرات چربی هسـتند و محل اصلی ذخیره رتینوئیدهـا (متابولیت های ویتامین A) می‌باشند. این سلول‌ها ۱۵٪ از سلول‌های کبد انسان سالم را تشکیل می‌دهد که در حالت طبیعی فنوتیپ خاموش را نشـان می‌دهند، اما پس از آسیب کبدی و ایجاد پاسخ التهابی این سلول‌ها فعال شده و تبدیل به سلول‌های میوفیبروبلاست مانندی می‌شوند که خاصیت تقسیم پذیری بالایـی دارند و نقش به سـزایی در بیان ژن‌های ماتریکس خارج سـلولی، سـنتز بالای کلاژن تایپ (I و III) و اکتین آلفای ماهیچه صـاف ($\alpha - SMA$)[6] ایفا می‌کنند. لازم به ذکر اسـت که این سلول‌ها پس از آسیب ایجاد شده به کبد اقدام به کاهـش قطرات لیپیدی حـاوی ویتامین A خود می‌کند (۷،۸). شروع فرآیند آسیب با تحریک سیگنال‌های فیبروژنیک پاراکرین کوپفرسـل ها، سـلول‌های اندوتلیال، پلاکت‌ها، سـلول‌های ایمنی و هپاتوسیت ها و همچنین در مراحـل پایانی با تکثیر، فیبروژنزیـز، انقباض پذیری، عدم تعـادل در ماتریکس متالوپروتئینازهـا[7] و اختلال در بیان مهارکننده آن‌ها و سـیگنال‌های التهابی که موجب فنوتیپ پایدار در HSC فعال می‌شود، همراه است (۹).



شکل ۱. مراحل آسیب به کبد

اولیـن مرحله بیمـاری کبد چرب غیر الکلی اسـت، در صـورت ادامه روند بیماری و عـدم درمان کبد وارد مراحل پیشرفته‌تر یعنی استئاتوهپاتیت غیر الکلی و سپس فیبروز می‌شـود و با آسیب حادتر منجر به سـیروز و هپاتوسلولار کارسینوما خواهد شد.



شکل ۲. نسبت هپاتوسلولار کارسینوما (HCC) مرتبط با بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) در بریتانیا، هند، آلمان و خاورمیانه (۱۰).

5- Disse
6- Alpha Smooth Actin Muscle
7- Metalloproteinase Matrix

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-19]

❑ ماکروفاژها

ماکروفاژهـــا به فراوانی در کبد یافت می‌شـــود، گرچه از نظر بافت شناســـی بسیار شـــبیه یکدیگر هستند اما دارای فعالیت‌های عملکردی متفاوتی در زمینه بیماری‌های کبدی هستند (۱۱).

کوپفرسل ها: در ســـال ۱۸۷۶، سلول‌های کوپفر از نام یک کالبد شـــناس آلمانی به نـــام کارل ویلهلم فن کوپفر[8] گرفته شده است. این سلول‌ها، خاصیت بیگانه خواری دارند و همچنین دارای خاصیت نوزایی[9] هستند. این ماکروفاژهای مستقر در کبد دارای مارکرهای سطحی CD11b، F4/80 و CD68 هستند. آسیب‌های کبدی منجر به فعال شدن این سلول‌ها و به دنبال آن ایجاد التهاب و ترشح سایتوکاین‌ها[10] و کموکاین های[11] التهابی شـــده که با تأثیر بر ســـلول‌های ستاره مانند کبدی در روند فیبروز مؤثر است (۱۲،۱۳).

ماکروفاژهای مشـــتق شده از منوســـیت‌ها: رده بنـــدی ماکروفاژها می‌تواند براســـاس میزان بیـــان فاکتور سطح ســـلولی لنفوســـیت آنتی ژن ۶ کمپلکس (Ly6C) باشـــد. دو جمعیت عمده لنفوســـیت‌ها در موش که شامل LY6C high کـــه منبـــع اصلی آن در مغز اســـتخوان و LY6 Clow در طحـــال و احتمـــالاً حفره صفاقی اســـت. منوسیت‌های مغز اســـتخوان (LY6C high) به سرعت به سیگنال‌های التهابی واکنش نشان می‌دهند و به کبد ملتهب مهاجرت می‌کنند، در نتیجه، وجـــود ماکروفاژهای التهابی مانند LY6C high در شرایط التهابی گسترش می‌یابد. بسته به شرایط کبد (شرایط غیر التهابی)، شاهد تغییر فنوتیپ و عملکرد این ماکروفاژهای التهابی به ماکروفاژهای ضد التهابی LY6 Clow خواهیم بود.

❑ کموکاین ها

ویژگـــی قابل ذکـــر بیماری‌های کبدی، التهاب اســـت و کموکاین ها نقـــش اصلی تعیین کننده در پیشـــرفت و یا بازگشـــت بیماری‌های کبـــدی و همچنین نقش کلیدی در فیبروز و سیروز کبدی دارند. گیرنده‌های پاسخ دهنده به این کموکاین ها بر روی سطح سلول‌های ایمنی و هم سلول‌های غیر ایمنی بیان می‌شـــوند. نفوذ متوالی سلول‌های ایمنی به داخل بافت کبد که توسط تنظیم کننده‌های اصلی همچون کموکاین ها و گیرنده‌های آن‌ها ایجاد می‌شود موجب ایجاد زخم می‌شـــود (۱۴). کموکاین از ادغام دو واژهٔ کموتاکتیک و ســـایتوکاین آمده اســـت، یعنی کمو از اول کموتاکسی و کین از آخر ســـایتوکاین گرفته شـــده اســـت. کموکاین ها در بسیاری از گونه‌ها یافت می‌شوند و همولوژی سکانس‌های اســـیدآمینه‌ای آن‌ها در سراسر گونه‌ها حفظ شده است. این مولکول‌ها، توسط انواع مختلفی از سلول‌ها، تولید می‌شوند. کموکایـــن ها بـــه عنوان عامـــل حیاتی بـــرای مهاجرت و فعال سازی سلول‌های التهابی مثل ماکروفاژها و سلول‌های غیر التهابی همانند سلول‌های ستاره مانند کبدی، شناخته می‌شوند (۱۵).

❑ ساختار کموکاین ها

کموکایـــن ها مولکول‌هـــای پروتئینی کوچـــک با وزن مولکولی حدود ۱۳-۸ دالتون هســـتند و بر اساس شباهت در اســـید آمینه‌های ســـازنده آن‌ها (الگوهای تکرار شونده جفت‌های سیســـتئینی و پل‌های داخلی دی سولفیدی) به ۴ گروه C، CC، CXC و CX3C تقسیم می‌شوند (۱۶).

❑ گیرنده‌های کموکاین ها

بدون در نظـــر گرفتن عامل کموتاکتیـــک، تمام اعمال کموکاین ها در نتیجه اتصال به گیرنده‌های غشای پلاسمایی صورت می‌پذیرد. این دســـته کموکاین ها اعمال خود را با اتصال به گیرنده‌های غشـــایی مرتبط با G پروتئین‌ها انجام می‌دهند. اتصال عوامل کموتاکتیک به گیرنده، آبشـــاری از وقایع داخل سلولی را آغاز می‌کند که در زمان ظهور اثرات

8- Karl Wilhelm von Kupffer
9- Regeneration property
10- Cytokine
11- Chemokine

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-19]

بیولوژیک به اوج می‌رسند (۱۷).

❑ کموکاین التهابی CCL2 و اثر آن بر فیبروز کبدی

کموکاین ها نقش اساسی در فراخوانی سلول‌های التهابی از مغز استخوان به محل التهاب (آسیب) را دارند. یکی از این کموکاین های التهابی، CCL2 که به آن پروتئین جاذب منوسیت ۱ (MCP1) نیز می گویند (گیرنده آن CCR2 است). این کموکاین ها از دسته کموکاین های دارای موتیف CC است که توسط گروهی از سلول‌ها، مانند ماکروفاژها، کوپفرسل ها و سلول‌های ستاره مانند کبدی ترشح می‌شوند که در جذب سلول‌های التهابی مانند مونوسیت ها به کبد نقش دارد (۱۸).

❑ کموکاین ضد التهابی CX3CL1 و اثر آن بر فیبروز کبدی

کموکاین ضدالتهابی CX3CL1 یا فراکتالکین که متعلق به زیر گروه CX3X است (گیرنده آن CX3CR1). محور CX3CR1- CX3CL1 به عنوان تنظیم کننده منفی، باعث جلوگیری از نفوذ مونوسیت ها به کبد آسیب دیده می‌شود و این تعامل به عنوان جوهر اساسی پاسخ‌های ضد التهابی در فیبروز کبد استنباط می‌شود که در نهایت منجر به بازگشت پذیری فیبروز کبدی می‌شود. کموکاین‌های CX3CR1 که بر روی سطح هر دو نوع ماکروفاژهای LY6C high و LY6 Clow بیان می‌شوند. در حالی که بیان این گیرنده بر روی سطح ماکروفاژ های Ly6C low غالب است (۱۸).

❑ عوامل رشد دخیل در فعال سازی سلول‌های ستاره مانند کبدی

مسیرهای سیگنالینگی مختلفی در ایجاد فیبروز کبدی نقش دارد که فاکتور رشد ترشح شده از پلاکت‌ها[12](PDGF)، عاملی مؤثر در تحریک و تکثیر HSC ها هستند. بیان رسپتورهای این فاکتور (PDGFR)، که یک رسپتور تیروزین کینازی[13] است، بر روی غشای سلول‌های فیبروبلاست بیان می‌شوند.

❑ مدل‌های حیوانی

به منظور القای فیبروز کبد در حیوانات آزمایشگاهی، دو روش کارآمد است. روش اول، مدل‌هایی که در نتیجه آسیب‌های توکسیک کبدی (القای سموم، مانند تتراکلرید کربن) ایجاد شده‌اند، که روشی بسیار کار آمد به منظور القای فیبروز به بافت کبد است. زیرا از لحاظ علمی کار با این مدل‌ها آسان‌تر است و ارتباط نزدیک‌تری با مسائل کلینیکی دارد؛ همچنین می‌توان از دُزهای بالا برای ایجاد آسیب حاد و از دُزهای پایین همان توکسین و تکرار دوزها جهت ایجاد آسیب مزمن استفاده نمود. روش دیگر با کمک مدل‌هایی است که در آن‌ها اعمال جراحی انجام می‌شود (همانند بستن مجرای صفراوی) (۱۹).

❑ اثر سلول‌ها و کموکاین های CCL2 و CX3CL1 در روند فیبروز کبد

در هنگام التهاب و آسیب کبدی، هپاتوسیت ها و کلانژیوسیت ها دچار آسیب شده و یکسری الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن ها (PAMPs) و الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب (DAMPs)تولید می‌کنند. این الگوها بر روی گیرنده‌های خود به نام TLR4 که بر روی سطح سلول‌های کوپفر و سلول‌های ستاره ماند کبدی است قرار گرفته که موجب ترشح کموکاین های التهابی مانند CCL2 از این سلول‌ها می‌شود. کموکاین CCL2 تولید شده از ۲ طریق موجب التهاب می‌شود:

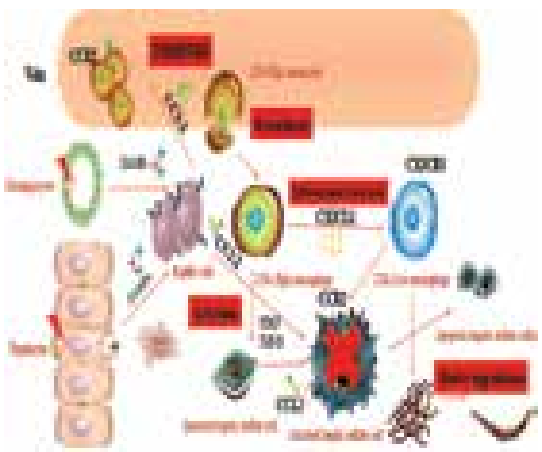
۱- این کموکاین به صورت مستقیم به رسپتور خود

12- Platelet-derived growth factor
13- Receptor tyrosine kinase

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-19]

(CCR2) که بر روی سطح سلول‌های HSC قرار دارد؛ متصل شده و باعث فعال شدن این سلول‌ها می‌شود.

این کموکاین ها موجب فراخوانی منوسیت‌های التهابی LY6C high از مغز استخوان به بافت کبد آسیب دیده شده و تبدیل به ماکروفاژ می‌شوند. سپس این سلول‌ها با ترشح فاکتورهای رشد PDGF و TGF-β و اثر بر روی HSC ها (گیرنده این فاکتورها بر روی سطح سلول‌های HSC بیان می‌شود) موجب تکثیر این سلول‌ها و تمایز آن‌ها به میوفیبروبلاست می‌شوند. در صورتی که شرایط التهابی به ضد التهابی تغییر یابد، با افزایش بیان کموکاین CX3CL1 توسط این ماکروفاژها موجب شده که ماکروفاژهای LY6C high به ماکروفاژهای LY6C low تمایز یابند که رسپتور آن را (CX3CR1) روی سطح خود دارد. این سلول‌ها با آپوپتوز HSC ها، همچنین با تجزیه ماتریکس خارج سلولی باعث مهار فیبروژنز می‌شوند.



شکل ۳. نمایی از سلول‌های درگیر در روند فیبروز کبدی و تأثیر کموکاین ها و مواد مترشحه از این سلول‌ها در روند فیبروز

❑ روش‌های درمانی

هدف قرار دادن رسپتورها از طریق داروها: با توجه به نقش برجسته HSC ها درروند فیبروز کبد، مسدود کردن مسیرهایی که باعث فعال شدن آن‌ها می‌شود، می‌تواند بسیار مفید باشد. تعدادی از داروهای ضدفیبروتیک که در مدل‌های حیوانی و برخی آزمایش‌های بالینی که در حال انجام است در جدول ۱ و ۲ زیر مشاهده می‌کنید. مکانیسم‌های درمانی این داروها در توانایی آن‌ها در مهار مسیرهای سیگنالینگ پروفیبروتیک، مسدود کردن گیرنده‌های مهم در فرآیند فعال سازی HSC ها و یا جلوگیری از تجمع گسترده ماتریکس خارج سلولی می‌باشد. گرچه این راهکارها روش‌هایی امیدوار کننده درمانی محسوب می‌شوند اما تاکنون هیچ روش درمانی موثری در درمان فیبروز کبد تاکید نشده است.

سلول‌درمانی: علاوه بر مکانیسم‌ها و داروها، تعدادی از مسیرهای حیاتی و سلول‌های مشارکت کننده باید مورد بررسی قرار گیرد. تأثیر عملکرد سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) [۱۴] و اگزوم های مترشحه از آن‌ها، توانسته است در پیشبرد اهداف درمانی بسیار کارآمد باشد. سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مغز استخوان و خون بندناف جداسازی می‌شوند. این سلول‌ها قابلیت تقسیم به چندین رده سلولی را دارند و به اصطلاح چند توان هستند. همچنین دسترسی آسان به این سلول‌ها برای پیوندهای اتولوگ و سینرژیک، حداقل رد پیوند، نداشتن مشکلات اخلاقی، تنظیم کننده سیستم ایمنی و توانایی گسترش در محیط آزمایشگاهی دامنه کاربرد آن‌ها را برای درمان‌های سلولی گسترش داده است. اثرات سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر کاهش التهاب کبدی را می‌توان بدین شرح عنوان نمود (۲۲-۲۰).

۱- تمایز به هپاتوسیت ها و تکثیر آن‌ها
۲- تحریک ترمیمی سلول‌های پارانشیمی اندوژن
۳- افزایش تجزیه ماتریکس خارج سلولی
۴- مهار تکثیر سلول‌های HSC
۵- تحریک آپوپتوز در سلول‌های HSC

14- Mesenchymal Stem Cell

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-19]

جدول ۱

داروهای آنتی فیبروتیک به طور بالقوه مؤثر در HSC فعال در مطالعات پیش بالینی		
اسامی داروها		
Candesartan	Sunitinib	Roseotoxin B
Ramipril	Bevacizumab	Carvedilol
Praziquantel	Brivanib	Pegbelfermin
Cilostazol	Celecoxib andoctreotide	Cenicriviroc
Thiazolidinedione	Hydronidone	Hesperidin
Sorafenib	Silymarin	Emricasan
Imatinib	Metformin	Elafibranor
Nilotinib	Selonsertib	Obeticholic acid

جدول ۲

آزمایش‌های بالینی در حال انجام با تمرکز بر اختلالات کبدی: پتانسیل تداخل در فعال سازی HSC		
اسامی داروها		
Candesartan	Silymarin	Pegbelfermin
Ramipril	Metformin	Cenicriviroc
Hydronidone	Selonsertib	Hesperidin
Emricasan	Elafibranor	Obeticholic acid
Carvedilol	----------	----------

References:

1- Marcellin P, Kutala BK (2018) Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. Liver Int 38:2–6.

2- Sacchi P, Cima S, Corbella M, et al (2015) Liver fibrosis, microbial translocation and immune activation markers in HIV and HCV infections and in HIV/HCV co-infection. Dig Liver Dis 47:218–225.

3- Khomich O, Ivanov A V, Bartosch B (2019) Metabolic hallmarks of hepatic stellate cells in liver fibrosis. Cells 9:24

4- Schuppan D, Ashfaq-Khan M, Yang AT, Kim YO (2018) Liver fibrosis: Direct antifibrotic agents and targeted therapies. Matrix Biol 68:435–451.

5- Karlmark KR, Weiskirchen R, Zimmermann HW, et al (2009) Hepatic recruitment of the inflammatory Gr1+ monocyte subset upon liver injury promotes hepatic fibrosis. Hepatology 50:261–274.

6- Iredale JP (2007) Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. J Clin Invest 117:539–548.

7- Senoo H, Mezaki Y, Fujiwara M (2017) The stellate cell system (vitamin A-storing cell system). Anat Sci Int 92:387–455.

8- Sun X, He Y, Ma T-T, et al (2014) Participation of miR-200a in TGF-β1-mediated hepatic stellate cell activation. Mol Cell Biochem 388:11–23.

9- Tsuchida T, Friedman SL (2017) Mechanisms of hepatic stellate cell activation. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 14:397–411.

10- Huang DQ, El-Serag HB, Loomba R (2021) Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 18:223–238.

11- Smedsrød B, De Bleser PJ, Braet F, et al (1994) Cell biology of liver endothelial and Kupffer cells. Gut 35:1509.

12- Tacke F (2017) Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases. J Hepatol 66:1300–1312.

13- Scott CL, Zheng F, De Baetselier P, et al (2016) Bone marrow-derived monocytes give rise to self-renewing and fully differentiated Kupffer cells. Nat Commun 7:1–10.

14- Ungvári I, Tölgyesi G, Semsei ÁF, et al (2007) CCR5Δ32 mutation, mycoplasma pneumoniae infection, and asthma. J Allergy Clin Immunol 119:1545–1547.

15- Mantovani A (1999) Chemokines. Karger Medical and Scientific Publishers.

16- Wuyts A, Haelens A, Proost P, et al (1996) Identification of mouse granulocyte chemotactic protein-2 from fibroblasts and epithelial cells. Functional comparison with natural KC and macrophage inflammatory protein-2. J Immunol 157:1736–1743.

17- Nessler M, Puchala J, Wood FM, et al (2013) Changes in the plasma cytokine and growth factor profile are associated with impaired healing in pediatric patients treated with INTEGRA® for reconstructive procedures. Burns 39:667–673.

18- Seki E, Schwabe RF (2015) Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways. Hepatology 61:1066–1079.

19- Abraldes JG, Pasarín M, García-Pagán JC (2006) Animal models of portal hypertension. World J Gastroenterol WJG 12:6577.

20- Zhang Z, Wang F-S (2013) Stem cell therapies for liver failure and cirrhosis. J Hepatol 59:183–185.

21- Parekkadan B, Van Poll D, Suganuma K, et al (2007) Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. PLoS One 2:e941.

22- Baghaei K, Mazhari S, Tokhanbigli S, et al (2021) Therapeutic potential of targeting regulatory mechanisms of hepatic stellate cell activation in liver fibrosis. Drug Discov Today.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2024-04-19]