

بررسی ارزش تشخیصی مقاطع بافتی منجمد در بیماران با پاتولوژی‌های پستان و تیروئید مراجعه کننده به بیمارستان‌های آموزشی وابسته‌ی دانشگاه علوم پزشکی بابل از سال ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۵

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۰۵ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۸/۱۸

خلاصه

مقدمه

با توجه به اهمیت نتایج مقاطع بافتی در تصمیم‌درمانی، این مطالعه با هدف تعیین ارزش تشخیصی مقاطع بافتی منجمد در مقایسه با پاتولوژی قطعی در جهت میزان اعتمادپذیری به آن در تشخیص ضایعات پستان و تیروئید در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی بابل حداقل سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۵ انجام شد.

روش کار

بیمارانی که بدلیل ندول تیروئید یا توده پستان تحت نمونه برداری جهت تعیین نوع پاتولوژی با استفاده از روش مقاطع بافتی منجمد قرار گرفتند، وارد پژوهش شدند. اطلاعات دموگرافیک بیماران، تشخیص مقطع بافتی منجمد و تشخیص پاتولوژی قطعی جمع‌آوری و مورد آنالیز قرار گرفت.

نتایج

از مجموع ۱۳۷ مورد (۱۰۴ مورد تیروئید، ۳۳ مورد پستان)، در تشخیص مقطع بافتی منجمد، ۹۱ مورد (۶۶/۴٪) از ضایعات خوش‌خیم و ۴۶ مورد (۳۳/۶٪) بدخیم گزارش شد که براساس پاتولوژی قطعی ۵۲ مورد (۳۸٪) بدخیم و ۸۵ مورد (۶۲٪) خوش‌خیم بودند. ارزش تشخیصی مقطع بافتی منجمد در تشخیص ضایعات بدخیم تیروئید با حساسیت ۶۳٪، ویژگی ۹۹٪، ارزش اخباری مثبت ۹۲٪، ارزش اخباری منفی ۹۲٪ و دقت تشخیصی ۹۲/۳٪ تعیین گردید. در تمام موارد پستان نتیجه مقاطع منجمد بافتی با پاتولوژی دائمی یکسان بود لذا ارزش تشخیصی مقاطع منجمد بافتی در تشخیص ضایعات بدخیم پستان قابل محاسبه نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به میزان بالای همخوانی فروزن سکشن با برش‌های دائمی ضایعات پستان و تیروئید می‌توان نتیجه گرفت که روش تشخیصی مقطع بافتی منجمد روشی دقیق و با ارزش تلقی می‌شود.

کلمات کلیدی

کیفیت خدمات، بیماران بستری، بیمارستان.

پی‌نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

رامین کفشگری^۱

نوین نیک‌بخش^۲

عسکری نورباران^۳

محمد رعنائی^۴

سپیده سیادت^۵

یاسر اصغری^۳

سکینه کمالی‌آهنگر^۶

مجید کلباسی^۳

علی زاهدیان^{۲*}

۱- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی

بابل، بابل، ایران

۲- مرکز تحقیقات سرطان، پژوهشکده سلامت،

دانشیار، گروه جراحی، بیمارستان شهید بهشتی بابل،

دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۳- گروه جراحی، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم

پزشکی بابل، بابل، ایران

۴- مرکز تحقیقات بهداشت باروری و ناباروری،

پژوهشکده سلامت، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۵- مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی،

پژوهشکده سلامت، گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی،

دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۶- کارشناس پژوهشی، واحد توسعه تحقیقات بالینی

بیمارستان شهید بهشتی بابل، دانشگاه علوم پزشکی بابل.

* واحد آموزش، واحد توسعه تحقیقات بالینی،

بیمارستان شهید بهشتی، بابل، ایران

تلفن: ۰۹۱۲۶۳۳۱۷۶۶

Email: alizahed20@yahoo.com

مقدمه

بررسی مقطع بافتی منجمد (Frozen section) یک نقش کلیدی در مدیریت جراحی بیماران مبتلا به بیماری‌های مشکوک به بدخیمی دارد. از زمان معرفی بررسی این روش در اواخر قرن بیستم، استفاده از مقطع بافتی منجمد به طور چشمگیری افزایش یافته است و این روش اطلاعات مفیدی از پاتولوژی نمونه بافتی در اختیار جراح حین عمل قرار می‌دهد (۱). اندیکاسیون‌های زیادی برای انجام مقاطع بافتی منجمد وجود دارد که از جمله تعیین ماهیت و وسعت ضایعه، ارزیابی حاشیه‌های جراحی و بررسی کفایت میزان بافت، جهت تشخیص زمینه‌ای است (۲). با این وجود هدف اصلی، در جهت تصمیم‌گیری صحیح و عدم نیاز به انجام جراحی‌های مجدد است (۳). اعتماد به روش مقطع بافتی منجمد به میزان صحت تشخیصی آن بستگی دارد و بطور معمول ارزش آن با گزارش پاتولوژی دائم مقایسه می‌شود.

در دهه‌های اخیر استفاده از روش مقطع بافتی منجمد به عنوان یکی از رویکردهای استاندارد برای توده‌های پستان در نظر گرفته شده به طوری که موارد مثبت کاذب نزدیک به صفر و موارد منفی کاذب کمتر از ۱٪ دارد. همچنین میزان عدم همخوانی مقطع بافتی منجمد با برش‌های دائمی کمتر از ۵٪ گزارش شده است. مقطع بافتی منجمد در تشخیص پاتولوژی‌های تیروئید نیز روشی پذیرفته شده است هر چند نقش آن در پاتولوژی‌های هرتل و فولیکولار تیروئید محدود است و در مقایسه با آسپیراسیون با سوزن نازک (FNA)، اطلاعات بیشتری در اختیار نمی‌گذارد. انجام مقطع بافتی منجمد می‌تواند با محدودیت نیز همراه باشد برای نمونه در ضایعات پاپیلاری تیروئید ویژگی‌های تشخیصی (شامل نمای شیشه مات و وجود انکوزیون‌های داخل هسته) قابل مشاهده نمی‌باشد و به همین دلیل برای تشخیص قطعی هنوز ضرورت انجام پاتولوژی دائم وجود دارد (۴).

روش کار

مطالعه حاضر به صورت مقطعی بر روی بیمارانی که به دلیل پاتولوژی‌های پستان یا تیروئید طی سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۵ در بیمارستان‌های آموزشی دانشگاه علوم پزشکی بابل بستری و دارای شرایط ورود به مطالعه بودند انجام گرفت. معیار ورود شامل بیمارانی که بدلیل ضایعات بدخیم و یا مشکوک به بدخیمی پستان یا تیروئید تحت نمونه برداری جراحی و بررسی نمونه با روش مقطع بافتی منجمد قرار گرفتند بود. برای بیماران در اتاق عمل و در شرایط استریل، نمونه برداری بصورت لوبکتومی در سمت ضایعه مشکوک برای ضایعات تیروئید و نمونه برداری اکسیژونال برای ضایعات پستان انجام گرفته و به واحد پاتولوژی ارسال می‌شد که ابتدا نمونه با روش مقطع بافتی منجمد ارزیابی و گزارش می‌شد و پس از آن همان نمونه تحت بررسی پاتولوژی قطعی قرار می‌گرفت. داده‌ها شامل اطلاعات دموگرافیک بیماران (سن و جنس)، گزارش پاتولوژی به روش مقطع بافت منجمد و گزارش پاتولوژی دائم جمع آوری و با استفاده از نرم افزار SPSS V.22 و آزمون‌های Chi-square و T-test آنالیز شد. P value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید.

نتایج

طی سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۵ در مجموع ۱۳۷ بیمار وارد مطالعه شدند که از این میان ۱۰۴ مورد (۷۵/۹٪) پاتولوژی تیروئید و ۳۳ مورد (۲۵/۶٪) پاتولوژی پستان بود. از نظر جنسیت ۱۸ بیمار (۱۳/۱٪) مرد (همه موارد تیروئید) و ۱۱۹ بیمار (۸۶/۱٪) زن (۸۶ مورد تیروئید و ۳۳ مورد پستان) بودند. کمترین سن ۱۰ سال و بیشترین سن ۷۶ سال و میانگین سنی بیماران $44/25 \pm 13/30$ سال بود. ارزش تشخیصی مقطع بافتی منجمد در تشخیص ضایعات بدخیم تیروئید حساسیت ۶۳٪، ویژگی ۹۹٪، ارزش اخباری مثبت ۹۲٪، ارزش اخباری منفی ۹۲٪ و دقت تشخیصی ۹۲/۳٪ بوده است.

جدول ۱ - ارزش تشخیصی مقطع بافتی منجمد در تشخیص ضایعات بدخیم تیروئید نسبت به تشخیص پاتولوژی قطعی

نتایج	حساسیت CI95%*	ویژگی CI95%	PPV** CI95%	NPV*** CI95%	LR+**** CI95%	LR-**** CI95%	دقت تشخیصی
تیروئید	۴۱-۸۵	۹۷-۱۰۰	۷۸-۱۰۰	۸۷-۹۸	۷/۴۲-۳۸۸/۲۳	۰/۳۷ ۰/۲۱-۰/۶۷	٪۹۲/۳

* فاصله اطمینان ۹۵٪، ** ارزش اخباری مثبت، *** ارزش اخباری منفی، **** نسبت درست نمایی مثبت، ***** نسبت درست نمایی منفی

اطلاعات بهترین رویکرد در جراحی را برای بیماران اتخاذ نماییم.

در پژوهش حاضر این نتیجه به دست آمد که روش مقطع بافتی منجمد با ویژگی ۹۹ و دقت ۹۲/۳ درصدی روشی قابل اطمینان در تشخیص بدخیمی‌های تیروئید بوده است. در پژوهشی که توسط حاتمی و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام شد از ۵۱ نمونه بررسی شده تیروئید ۴۷ مورد تطابق، ۱ مورد عدم تطابق و ۲ مورد غیر تشخیصی گزارش گردید که ویژگی ۹۹/۵۵ درصدی داشته و مشابه مطالعه ما می‌باشد (۶). در مطالعه Kumar و همکاران نیز دقت تشخیصی مقطع بافتی منجمد در تشخیص بدخیمی‌های تیروئید برابر ۹۶٪ گزارش شد (۷). Bollig و همکاران در سال ۲۰۱۸ نیز با انجام مطالعه ای به این نتیجه دست یافتند که مقطع بافتی منجمد در بیماران مشکوک به بدخیمی حساسیتی برابر ۹۵ و ویژگی ۱۰۰٪ دارد (۸).

در مطالعه‌ی رهبر و همکاران و همچنین مطالعه Baloch، نیز عدم تطابق در نمونه‌های تیروئید گزارش شد. علت این امر این طور بیان شد که از آنجایی که در مطالعات مختلف نقش مشاوره حین عمل در ندول‌های تیروئید مورد بحث می‌باشد، لذا انجام مقطع بافتی منجمد در نمای پاپیلری کارسینوما تنها در موارد آسپیراسیون با سوزن ظریف مشکوک به بدخیمی ارزشمند می‌باشد و در نمونه‌های آسپیراسیون با سوزن ظریف تیروئید با گزارش نمای فولیکولار، انجام مقطع بافتی منجمد غالباً در تشخیص کارسینوم فولیکولار یا سلول هرتل فاقد ارزش یا دارای ارزش محدودی می‌باشد، از این رو بهترین روش تشخیصی در این موارد، انجام مقطع بافتی منجمد همراه با سیتولوژی حین عمل می‌باشد (۹، ۱۰). البته لازم به ذکر است.

از ۳۳ نمونه پستان، تشخیص پاتولوژی قطعی نیز همانند مقطع بافتی منجمد، بدخیم بوده و عدم تطابق مشاهده نشده است. اگرچه این نشان دهنده ارزش بالا و تطابق ۱۰۰ درصدی تشخیص مقطع بافتی منجمد و پاتولوژی دائمی است، ولی ارزش تشخیصی مقطع بافتی منجمد در تشخیص ضایعات بدخیم پستان از نظر آماری قابل محاسبه نمی‌باشد.

بحث

هدف از این مطالعه، بررسی ارزش تشخیصی مقطع بافتی منجمد در بیماران مبتلا به بیماری‌های پستان و تیروئید بوده است. با انجام تجزیه و تحلیل‌های مختلف و بررسی صحت تشخیصی مقطع بافتی منجمد نسبت به تشخیص پاتولوژی قطعی، مشخص شد که مقطع بافتی منجمد در تشخیص بدخیمی‌های تیروئید صحت بالا و قابل و قبولی دارد. همچنین به دست آمدن ویژگی ۹۹ درصدی مقطع بافتی منجمد در ضایعات بدخیم تیروئید نشان می‌دهد که از هر ۱۰۰ نفری که بر اساس پاتولوژی دائم، تشخیص خوش خیم داشتند، این تست توانسته ۹۹ نفر را به درستی خوش خیم تشخیص دهد. از آن جایی که روش مقطع بافتی منجمد به دلیل احتمال خطاهای تشخیصی، می‌تواند در مواردی با خطر و عواقب مهم برای بیمار همراه باشد (۵) بر این اساس، بالا بودن صحت و کنترل کیفی این شیوه از اهمیت بالایی برخوردار است. آن چه در بررسی ارزش تشخیصی مقطع بافتی منجمد اهمیت دارد، میزان همخوانی این روش نسبت به گزارش پاتولوژی برش‌های دائمی می‌باشد. به همین دلیل لازم است مطالعات مختلفی در زمینه صحت روش مقطع بافتی منجمد در جراحی‌های مختلف فراهم گردد تا بتوان با استفاده از این

کاذب ۳/۱٪ بوده است. میزان حساسیت، ویژگی و صحت این روش به ترتیب ۹۶/۹، ۱۰۰ و ۹۷/۸٪ گزارش شد (۱۳). در مطالعه Binachi و همکاران که بر روی ضایعات غیر قابل لمس پستان، حساسیت و ویژگی روش مقطع بافتی منجمد به ترتیب ۹۱/۷ و ۹۹/۲٪ گزارش شده است (۱۴). به طور کلی و بر اساس مطالعه حاضر نیز مقطع بافتی منجمد در تشخیص بدخیمی‌های پستان قابل استناد می باشد. میزان عدم تطابق بین گزارش مقطع بافتی منجمد و تشخیص نهایی باید حدود ۴٪ باشد که با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی دارد. البته لازم به ذکر است توانایی متخصص پاتولوژی و ویژگی‌های حرفه‌ای در انجام روش مقطع بافتی منجمد اهمیت زیادی دارد (۱۵).

نتیجه گیری

بر اساس مطالعه حاضر، بررسی مقاطع بافتی منجمد در تشخیص بدخیمی‌های تیروئید با ویژگی ۹۹٪، صحت بالا و قابل قبولی دارد. همچنین بر اساس یافته مطالعه ما، میزان همخوانی مقطع بافتی منجمد با برش‌های دائمی به طور کلی و در مجموع ضایعات پستان و تیروئید برابر ۹۶/۲٪ بوده که می توان نتیجه گرفت که روش تشخیصی مقطع بافتی منجمد روشی دقیق و با ارزش به حساب می آید.

تقدیم و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی بابل که با پشتیبانی خود، و واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان شهید بهشتی بابل که امکان انجام این مطالعه را فراهم ساختند، کمال سپاس را داریم.

که در مطالعه حاضر ارزش تشخیصی مقطع بافتی منجمد در تشخیص توده‌های تیروئید بدون در نظر گرفتن هیستوپاتولوژی آنها تعیین گردیده است. از نکات قابل توجه در بررسی تطابق مقطع بافتی منجمد با برش‌های دائمی که در بسیاری از مطالعات پرداخته نشده است و می تواند علت تفاوت در درصد تطابق بین دو روش در برخی مطالعات باشد، تعداد برش‌های بافتی مورد ارزیابی از هر نمونه در مقطع بافتی منجمد است که می تواند به عنوان یک عمل تاثیرگذار قابل ذکر باشد. اگرچه در سایر موارد مقطع بافتی منجمد نظیر تشخیص بدخیمی در ضایعات تومورال و یا تعیین وضعیت حاشیه آن بررسی یک مقطع مناسب کافی خواهد بود اما در برخی موارد تشخیصی، تعداد بیشتر مقطع احتمال خطا را به میزان قابل توجهی کاهش خواهد داد (۱۱).

همانطور که در نتایج اشاره شد تشخیص به روش مقطع بافتی منجمد در توده‌های پستان مطابقت ۱۰۰ درصدی با پاتولوژی قطعی داشته است و از این رو حساسیت، ویژگی و دقت تشخیصی محاسبه نشده است. در ادامه به دلیل ذکر شده در بالا به بررسی مطالعات مختلف بدون مقایسه عددی با یافته پژوهش حاضر می پردازیم. Karve و همکاران با انجام مطالعه‌ای در مورد توده‌های پستان گزارش کردند که موارد مثبت کاذب روش مقطع بافتی منجمد حدود صفر و موارد منفی کاذب آن کمتر از ۱ درصد گزارش شده است. همچنین میزان عدم تطابق مقطع بافتی منجمد با پاتولوژی برش‌های قطعی، کمتر از ۵٪ گزارش شده است (۱۲). بر اساس مطالعه افشار مقدم و همکاران در سال ۲۰۱۶، تشخیص به روش مقطع بافتی منجمد در مورد نمونه‌های پستان، موارد مثبت کاذب، صفر و موارد منفی

References

1. Howanitz PJ, Hoffman GG, Zarbo RJ. The accuracy of frozen-section diagnoses in 34 hospitals. *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114:355-9.
2. Mahe E, Ara S, Bishara M, Kurian A, Tauqir S, Ursani N, et al. Intraoperative pathology consultation: error, cause and impact. *Can J Surg* 2013; 56:E13-8.
3. Shrestha S, Basyal R, Pathak T, Lee M, Dhakal H, Pun M, et al. Comparative study of frozen section diagnoses with histopathology. *Post Grad Med NAMS* 2009; 9:1-5.
4. Baloch ZW, LiVolsi VA. Intraoperative assessment of thyroid and parathyroid lesions. *Semin Diagn Pathol* 2002; 19:219-26 .
5. Mayoaran N, Waters PS, Kaim Khani TY, Kerin MJ, Quill D. FNAC and frozen section correlations with definitive histology in thyroid diseases. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2016; 273:2181-4.
6. Hatami H, Mohsenifar Z ,Alavi SN. The diagnostic accuracy of frozen section compared to permanent section: a single center study in Iran. *Iran J Pathol* 2015; 10:295-9.
7. Kumar M, Potekar R, Ramling Yelikar B, Patil V, Karigoudar M, Pande P. Diagnostic accuracy of frozen section in comparison with fine needle aspiration cytology in thyroid lesions—a prospective study. *Iran J Pathol* 2013; 8:219-26 .
8. Bollig CA, Gilley D, Lesko D, Jorgensen JB, Galloway TL, Zitsch RP 3rd, et al. Economic impact of frozen section for thyroid nodules with “suspicious for malignancy” cytology. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2018; 158:257-64 .
9. esions. *Semin Diagn Pathol* Baloch ZW, LiVolsi VA. Intraoperative assessment of thyroid and parathyroid l . ۲۶-۱۹:۲۱۹ ;۲۰۰۲
10. Rahbar M, Kanani M, Khazaei S, Shahi M. Diagnostic value of frozen section and permanent sections. *J Babol Univ Med Sci* 2008; 10:31-5.
11. Kobayashi K, Ando K, Ito K, Tsushima M, Morozumi M, Tanaka S, et al. Accuracy of intraoperative pathological diagnosis using frozen sections of spinal cord lesions. *Clin Neurol Neurosurg* 2018; 167:117-21 .
12. Karve PV, Jambhekar NA, Desai SS, Chinoy RF. Role of frozen section evaluation in patients with breast lumps: a study of 251 cases. *Indian J Surg* 2005; 67:248 .
13. Afsharmoghaddam N, Heidarpour M, Salehi F, Mehrabi KA. Diagnostic value of frozen section compared to .permanent pathology in breast and ovarian masses *J Isfahan Med Sch* 2016; 34:232-7 .
14. Bianchi S, Palli D, Ciatto S, Galli M, Giorgi D, Vezzosi V, et al. Accuracy and reliability of frozen section diagnosis in a series of 672 nonpalpable breast lesions. *Am J Clin Pathol* 1995; 103:199-205.
15. Suarez-Zamora DA, Barrera-Herrera LE, Palau-Lazaro MA, Torres-Franco F, Orozco-Plazas A, Barreto-Hauzeur L, et al. Accuracy and interobserver agreement of retroareolar frozen sections in nipple-sparing mastectomies. *Ann Diagn Pathol* 2017; 29:46-51.

Original Article

Diagnostic value of frozen sections in patients with breast and thyroid pathologies in Hospitals of Babol University of medical sciences 2011 to 2016

Received: 27/09/2019 - Accepted: 09/11/2019

Ramin Kafshgari(MD)¹
Novin Nikbakhsh(MD)²
Askari Noorbaran(MD)³
Mohammad Raanaei(MD)⁴
Sepideh Siadati(MD)⁵
Yasser Asghari(MD)³
Sekineh Kamali Ahangar(MD)⁶
Majid Kalbasi(MD)³
Ali Zahedian(MD)^{2*}

¹ Student research Committee , Babol University Of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

²Cancer Research Center, Health Research Institute, Department of Surgery, School of Medicine , Babol University of Medical, Babol, Iran.

³General Surgeon, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran.

⁴Infertility and Health Reproductive Research Center, Health Research Institute, Department of Pathology, School of Medicine , Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

⁵Cellular and Molecular Biology Research Center, Health Research Institute, Department of Pathology, School of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

⁶Clinical Research Development Center, Shahid Beheshti Hospital, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran.

* Clinical Research Development Center, Shahid Beheshti Hospital, Babol, Mazandaran

Tel: +981132256285

Email: alizahed20@yahoo.com

Abstract

Introduction: this study aimed to determine the diagnostic value of frozen tissue sections in comparison with definitive pathology in terms of its reliability in the diagnosis of breast and thyroid lesions in patients referring to educational hospitals of Babol University of Medical Sciences from 2011-2016.

Materials and Methods: all patients who underwent thyroidectomy or breast surgery due to a mass that frozen sections was performed were included. Patients demographic characteristics, frozen section diagnosis and Permanent pathology diagnoses were collected and analyzed.

Results: Of 137 cases (104 cases of thyroid and 33 cases of breast) who required frozen section, totally, 91 cases (66.4%) were reported benign lesions and 46 cases (33.6%) were reported malignant. Also, based on a permanent diagnosis, 52 cases (38.0%) were malignant and 85 (62.0%) were benign. The diagnostic value of the frozen section in detecting malignant thyroid lesions was 63% sensitivity, specificity was 99%, the positive predictive value was 92%, negative predictive value was 92%, and diagnostic accuracy was 92.3%. In cases of breast, the result of frozen tissue sections is consistent with permanent pathology, therefore, the diagnostic value of frozen tissue sections in determining the malignant lesions of the breast can not be calculated.

Conclusion: Considering the high rate of consistency of frozen sections with permanent pathology in breast and thyroid lesions, it can be concluded that the frozen tissue section is considered as a precise and valuable method.

Key words: Frozen Section, Thyroid, Lesions, Breast, Lesions, Diagnostic, Values

Acknowledgement: There is no conflict of interest.