

بررسی ارتباط بین ژنوتیپ آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) و عوارض دیررس ناشی

از گاز خردل در مواجهه یافتگان شیمیایی روستای زرده کرمانشاه

احمد همتا^{۱*} Ph.D.، حسنا فولادی منصورى^۲ M.Sc.

۱- دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، کد پستی: ۸۳۴۹-۸-۳۸۱۵۶

۲- کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه اراک، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: a-hamta@araku.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۵

چکیده

هدف: گاز خردل (SM) یک عامل آلکلیله کننده است که به پوست، چشم و سیستم تنفسی آسیب می‌رساند. همچنین پلی مورفیسم درج شدگی/حذف شدگی (I/D) ژن آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) در رابطه با بیماری‌های قلبی عروقی و فیبروز ریوی مطالعه شده است. فراوانی الل D در بیماران با فیبروز ریوی نسبت به گروه کنترل بالاتر است. پس هدف از این پژوهش بررسی ارتباط بین ژنوتیپ آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) و عوارض دیررس ناشی از گاز خردل در مواجهه یافتگان شیمیایی روستای زرده کرمانشاه است. مواد و روش‌ها: نمونه های خون از ۳۴ نفر از مردم مواجه یافته با گاز خردل در روستای زرده استان کرمانشاه به عنوان گروه مورد مطالعه و از ۳۰ نفر از مردم شهرستان اسلام آباد غرب واقع در همین استان به عنوان گروه کنترل گرفته شد. اطلاعات بیشتر درباره وجود سه عارضه دیررس تنفسی، پوستی و چشمی ناشی از مواجهه با این گاز، از طریق پرسش نامه جمع آوری شد. ژنوتیپ ACE با استفاده از PCR و ژل الکتروفورز پیرو آن تعیین گردید.

نتایج: میزان بروز سه عارضه تنفسی، پوستی و چشمی به ترتیب ۵۲/۹، ۵۰ و ۴۴/۱ درصد بود. فراوانی ژنوتیپ DD، ID و II در گروه مورد مطالعه، در افراد دارای عارضه تنفسی به ترتیب ۰/۵، ۰/۴۴ و ۰/۱۰۶، در افراد بدون عارضه نیز به ترتیب ۰/۱۲، ۰/۶۹ و ۰/۱۹ و در گروه کنترل این فراوانی‌ها به ترتیب ۰/۳ و ۰/۵۳ و ۰/۱۷ بودند. مشخص گردید که فراوانی ژنوتیپ DD در افراد دارای عارضه تنفسی به شکل معنی داری نسبت به افراد بدون عارضه بالاتر است ($\chi^2 = 6/22$ ، $P = 0/045$ و $df = 2$).

نتیجه گیری: این نتایج نشان داد که ژنوتیپ DD ژن ACE، خطر ابتلا به عوارض تنفسی گاز خردل را افزایش می‌دهد.

واژگان کلیدی: آنژیوتانسین، ژنوتیپ، گاز خردل، روستای زرده کرمانشاه.

مقدمه

گاز خردل (Sulfur Mustard) به عنوان عامل شیمیایی برای اولین بار در جنگ جهانی اول، توسط آلمان علیه بلژیک، به کار برده شد. استفاده از این عامل، همچنین در جنگ‌های ایتالیا علیه ایتویپی، ژاپن علیه چین، در طول جنگ جهانی دوم و به دفعات فراوان توسط نیروهای بعثی عراق علیه نظامیان و غیر نظامیان کشورمان، گزارش شده است (۱).

مکانیسم آسیب‌زایی گاز خردل را می‌توان با توجه به توانایی این گاز در انجام دو واکنش شیمیایی پی‌درپی توضیح داد. اولین واکنش در پی خروج یک اتم کلر از ساختار خردل گوگردی و تشکیل کاتیون حد واسطه اپی‌سولفونیوم رخ می‌دهد. در واکنش دوم ساختار کاتیون اپی‌سولفونیوم برای ایجاد یون کربونیوم باز می‌شود که باعث الکیلاسیون مولکول‌های سلولی هدف می‌شود. واکنش دوم با سرعت بالایی موجب الکیل‌دار کردن گروه‌های سولفیدریل داخل سلولی و مولکول‌های حاوی گروه آمین مانند بازهای پورین از DNA، RNA و پروتئین‌ها می‌شود. مناطق دپورینه شده به عنوان جایگاه‌هایی برای شکستگی DNA باعث شکل‌گیری الگوی نادرست در پیوستگی DNA است که در نهایت به شکل‌گیری پروتئین‌های فاقد عملکرد منجر می‌شود. عوارض ناشی از گاز خردل، بیشتر از فرسودگی مکانیسم‌های تعمیر داخل سلولی به وجود می‌آیند (۲، ۳ و ۴) علاوه بر ایجاد خطا در همانندسازی DNA و سنتز پروتئین‌های فاقد عملکرد، بیش از حد فعال شدن آنزیم پلی‌مراز، کاهش داخل سلولی ذخایر نیکوتین آمین دی‌نوکلئوتید (NAD⁺) را موجب می‌شود. کاهش NAD⁺ در نهایت در نکرور سلولی از طریق فعال شدن پروتئازهای سلولی و به موازات سایتوکاین‌های پیش التهابی، توسعه آسیب بافت را موجب می‌شود (۵).

گاز خردل مسبب عوارض فراوان در بافت‌های پوست، چشم، دستگاه تنفسی، گوارش، سیستم غدد درون‌ریز، مغز استخوان، سیستم عصبی و سیستم ایمنی است و نیز آثار جهش‌زایی و سرطان‌زایی دارد (۶-۹). شدت این عوارض بستگی به نحوه‌ی تماس، مقدار تماس با گاز خردل، سن فرد، میزان ایمنی و مقاومت فرد دارد. به جز شرایط حاد (عوارض زودرس) که در اولین ساعات بعد از تماس با این گاز، به دلیل التهاب و تخریب سلول‌ها ظاهر می‌شود. در گروه عمده‌ای از جانبازان و افراد غیرنظامی تماس یافته، عوارض پایدار، غیر قابل برگشت یا دیر

ظهور متعددی گزارش شده است که چند ماه تا چند سال (عوارض دیررس) پس از تماس ایجاد می‌شود (۱۰، ۱۱ و ۱۲). مطالعات سال‌های اخیر نشان می‌دهد که شایع‌ترین اعضای درگیر در مواجهه با گاز موستارد به ترتیب شیوع شامل سیستم تنفسی (۴۲/۵ درصد)، چشم (۳۹/۳ درصد) و پوست (۲۴/۵ درصد) بوده است (۳).

سیستم رنین آنژیوتانسین (Renin Angiotensin System) یا سیستم رنین آنژیوتانسین آلدسترون (Renin Angiotensin Aldosterone System)، یکی از سیستم‌های هورمونی است که جهت کنترل نمک، حجم خون و فشار خون (Blood Pressure)، حفاظت شده است (۱۳). همچنین سیستم رنین آنژیوتانسین (RAS) در التهاب ریوی و پاسخ‌های فیبروتیک نیز دخالت دارد (۱۴). سیستم ژنی RAS از ژن رنین، آنژیوتانسینوژن (Angiotensinogen) آنزیم مبدل ۱ آنژیوتانسین (ACE) و گیرنده‌ی نوع ۱ و ۲ آنژیوتانسین (Angiotensin Receptor 1 و 2) تشکیل شده است. در پی کاهش فشار خون، سلول‌های جنب گلوامرولی در کلیه موجب ترشح رنین به گردش خون می‌شوند. رنین تبدیل آنژیوتانسینوژن (AGT) را به آنژیوتانسین I کاتالیز می‌کند. تبدیل آنژیوتانسین I به آنژیوتانسین II (Ang II) از واکنش‌های کلیدی در مسیر RAS است. Ang II یک انقباض دهنده قوی عروق و محرک تولید آلدسترون است. این واکنش توسط ACE کاتالیز می‌شود. ACE یک متالوپپتید روی و عضو خانواده Alu است که به عنوان یک دی‌پپتید کربوکسیلاز (DCP1) عمل می‌کند. مکانیسم‌های کنترل سطوح ACE در گردش خون به احتمال زیاد نوعی کنترل ژنتیکی در سطح نسخه برداری و در رابطه با عدم تعادل عناصر تنظیم‌کننده ژن ACE می‌باشد. ACE دی‌پپتید His-Leu، C-ترمینال Ang I را جدا می‌کند و اکتاپپتید فعال رگی Ang II تولید می‌شود (۱۵).

در انسان، ژن ACE بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۷ (17q23) واقع شده است. این ژن ۲۱ کیلو باز (kb) طول دارد و شامل ۲۶ اگزون و ۲۵ اینترون است (۱۶). پلی‌مورفیسم ژن ACE اولین بار توسط Rigat گزارش شد. عمده پلی‌مورفیسم کشف شده توسط Rigat از نوع درج‌شدگی/حذف است. دو آلل D و I از ژن ACE به دلیل عدم وجود و وجود یک توالی ۲۸۷ جفت بازی در اینترون ۱۶ از این ژن در اندازه متفاوت هستند و سه

یافتن رابطه بین بروز مشکلات دیررس تنفسی و نوع ژنوتیپ آنزیم مبدل آنژیوتانسین در مواجهه‌یافتگان با گاز خردل بود. در عین حال با استفاده از داده‌های حاصل از پرسش‌نامه میزان شیوع عوارض دیررس چشمی و پوستی نیز مورد مطالعه قرار گرفت. در واقع با شناخت دقیقی از عوارض ناشی از مواجهه با گاز خردل که ممکن است با ژنوتیپ افراد مواجه یافته در ارتباط باشد، می‌توان اقدامات تشخیصی و درمانی به موقع و درستی را به کار بست.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ۳۴ نفر از جانبازان شیمیایی روستای زرده (همگی دارای کد جانبازی) به‌عنوان گروه مورد مطالعه و ۳۰ نفر از اهالی شهرستان اسلام آباد غرب که از اثرات بمب شیمیایی کاملاً مصون بودند، به‌عنوان گروه شاهد وارد مطالعه شدند (تاییده این پژوهش از دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه از قبل کسب شده بود). جانبازان دارای سابقه مصرف سیگار از مطالعه حذف شدند و از تمامی جانبازان رضایت کتبی منبئ بر شرکت آگاهانه در این پژوهش، اخذ گردید. همچنین پرسش‌نامه‌ها (شامل سن، جنسیت و بروز سه عارضه پوستی، چشمی و تنفسی که توسط نویسندگان طراحی شد)، توسط مسئول خانۀ بهداشت روستای زرده از افراد مورد مطالعه به دقت تکمیل شد. معیار طبقه‌بندی افراد برای عوارض تنفسی، پوستی و چشمی براساس شکایات شفاهی جانبازان از مشکلاتی چون تنگی نفس، سرفه و دفع خلط در دستگاه تنفسی، احساس خارش، پوسته‌پوسته شدن، قرمزی و هر گونه تغییر غیرعالی در رنگ‌دانه‌های پوست و همچنین تاری دید، سوزش و درد در چشم‌ها بود. از تمامی افراد ۵ میلی‌لیتر خون از ورید دست گرفته شد و به لوله‌ی آزمایشگاهی حاوی EDTA ریخته شده و جهت انجام مراحل بعدی به فریزر ۴۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

برای استخراج DNA از روش دستی با پروتکل استخراج نمکی (Salting out) استفاده شد. در این پژوهش جهت تعیین کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. وجود تک باندهای کاملاً تیز و بدون کشیدگی نشان دهنده کیفیت مناسب بود. جهت تعیین کمی نمونه‌ها از دستگاه Biophotometer ساخت شرکت Eppendorf کشور آلمان، استفاده شد. میزان جذب نور ماروا

ژنوتیپ DD، DI و II ایجاد می‌شود (۱۷). با در نظر داشتن نقش سیستم ACE در سیستم RAS، آلل D از این ژن با توسعه سندرم دیسترس تنفسی حاد همراه است و نشانگر عملکرد تنفسی در بیماری‌های حاد می‌باشد (۱۸ و ۱۹). با این حال، عکس چنین تاثیر زیان‌باری از آلل D در بیماری حاد در رابطه آلل D با حفظ قدرت عضلات اسکلتی در میان بیماران مبتلا به بیماری‌های مزمن ریوی نیز گزارش شده است (۲۰). قبلاً محققین دریافته‌اند که آنژیوتانسین II (حاصل فعالیت ACE) میتوزن برای فیبروبلاست ریه است. علاوه بر این، هم مهارکننده‌های ACE و هم نوع ۱ آنتاگونیست‌های گیرنده آنژیوتانسین باعث کاهش رسوب کلاژن و فیبروز بینابینی در تعدادی از مدل‌های تجربی آسیب ریه شده‌اند، در واقع با مهار فعالیت ACE توسط مهارکننده‌اش یا آنتاگونیست آن، از شدت تخریب فیبروبلاست‌ها و رسوب کلاژن و فیبروز بافت بینابینی کاسته شده است (۲۱ و ۲۲). در ضمن، با در نظر گرفتن این که ACE در ماکروفاژهای فعال آلونولار و لنفوسیت‌ها بیان دارد، پژوهش‌هایی نشان می‌دهند که در ماکروفاژهای ریوی فعال، مهار ACE بیان رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد. با این حال، نقش آن در تعدیل پاسخ‌های التهابی به وضوح تعریف نشده است (۲۳). در واقع رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط ماکروفاژهای ریوی که موجب ایجاد اختلالات تنفسی می‌شوند با افزایش فعالیت ACE مرتبط با الل D، افزایش می‌یابند. همچنین اعتقاد بر این است که آنژیوتانسین II نقش فعالی در التهاب بافتی با تحریک مهاجرت نوتروفیل‌ها (۲۴)، فعال‌سازی مونوسیت‌های محیطی (۲۵) و القای بیان مولکول‌های چسبندگی در سلول‌های اندوتلیال (۲۶)، بازی می‌کند. همچنین مهار ACE در موش بالغ نژاد Sprague-Dawley که در معرض دوره‌های طولانی مدت کمبود اکسیژن قرار داشتند، هایپرتروفی عضله صاف عروق ریوی در مقایسه با گروه شاهد از موش صحرائی کاهش یافته بود (۲۷).

با توجه به استفاده مکرر گاز خردل توسط رژیم بعثی عراق بر ضد افراد نظامی و غیر نظامی کشورمان و عوارض دیررس تنفسی ناشی از این سلاح شیمیایی و همچنین ارتباط بین پلی‌مورفیسم حذف و اضافه (I/D) ژن ACE با شدت چندین بیماری مزمن و حاد ریوی، هدف این پژوهش، یافتن ژنوتیپ ژن ACE در افراد گروه نمونه از روستای زرده استان کرمانشاه و

سه پرایمر است، استفاده شد که توالی این پرایمرها در جدول ۱ آمده است و از مقاله آقای مانهوز و همکاران استخراج شد (۲۸).

بنفش با میزان DNA نمونه متناسب است و در یک نمونه خالص DNA نسبت جذب در ۲۶۰/۲۸۰ مساوی با ۱/۸ تا ۲ است. به منظور بررسی ژنوتیپ ACE از نوعی PCR که دارای

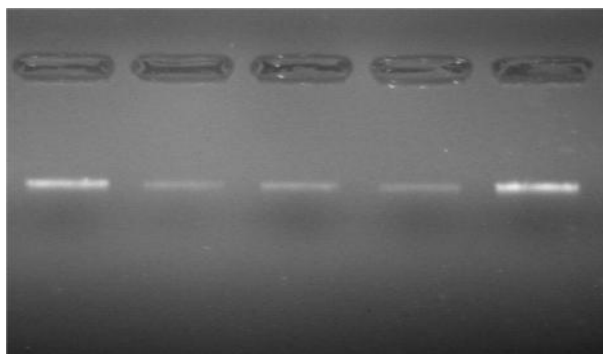
جدول ۱: توالی پرایمرهای PCR جهت تعیین ژنوتیپ ژن ACE

Forward	5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3'
Reverse	5'-GATGTGGCCATCACATTTCGTACAGAT-3'
Internal	5'-TGGGATTACAGGCGTGATACAG-3'

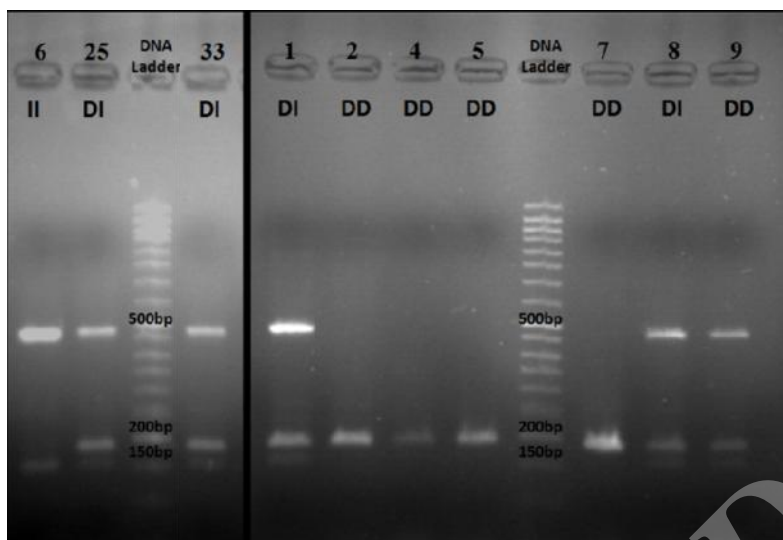
۷۲ درجه سانتی‌گراد (برای اطمینان از همانندسازی تمام تک رشته‌های DNA) انجام گرفت. برای تعیین ژنوتیپ هر یک از نمونه‌های حاصل از PCR از ژل ۲ درصد آگارز استفاده شد. محصول PCR ژنوتیپ ژن ACE سه قطعه ایجاد می‌نمود: محصول ژنوتیپ DD، قطعه‌ای به طول ۱۹۰bp، در ژنوتیپ II قطعه‌هایی به طول ۴۸۰ و ۱۶۰ جفت باز و در ژنوتیپ ID سه قطعه به طول‌های ۱۶۰ و ۱۹۰ و ۴۸۰ تولید می‌شد.

کار تعیین ژنوتیپ برای تمامی نمونه‌ها انجام گرفت و داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ و پرسش‌نامه توسط نرم افزار SPSS ورژن ۱۶ و روش آنالیز Chi-squared (جهت بررسی رابطه‌ی جنسیت و ژنوتیپ در گروه‌های مختلف)، Independen-Samples T-Test (جهت بررسی میانگین سنی گروه‌های مختلف) و مدل‌های همبستگی (جهت بررسی رابطه‌ی ژنوتیپ در گروه‌های مختلف) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و تفاوت میانگین‌ها در سطح $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد. تمامی مراحل این پژوهش از تیر ماه سال ۱۳۹۲ تا تیر ماه ۱۳۹۳ به طول انجامید.

در این نوع PCR وجود یک پرایمر داخلی، همانندسازی از توالی اختصاصی ال I را انجام داده و در نمونه‌های دارای ال I وجود باند مربوط به آن صحت تعیین ژنوتیپ را ثابت میکند. همچنین توالی این پرایمرها با استفاده از برنامه‌ی BLAST سایت NCBI بررسی شد و توسط شرکت سیناکلون سنتز شد. حجم نهایی برای هر واکنش ۲۰ میکرولیتر بود (مواد هر واکنش شامل، Master Mix، پرایمرها (توالی پرایمرهای بکار رفته در این پژوهش در جدول ۱ ارائه شده است)، DNA استخراجی و آب دیونیزه بود که مقدار DNA برای هر واکنش طی بررسی‌های بهترین حالت برای PCR ۲/۵ میکرولیتر تعیین شد). در این پژوهش کیت Master Mix ساخت شرکت Genetbio استفاده شد و PCR در دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت Eppendorf انجام گرفت. مراحل PCR پس از واسرشته‌سازی در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، تعداد ۳۰ دوره (۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه) و سپس یک مرحله طویل‌سازی به مدت ۱۰ دقیقه در



شکل ۱: تعیین کیفیت DNA/استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱ درصد



شکل ۲: دو ژل تعیین ژنوتیپ ژن ACE شماره‌ی هر نمونه در بالای چاهک و نوع ژنوتیپ در پایین چاهک و باندهای مهم در قسمت DNA Ladder درج شده است. وجود و یا عدم وجود سه باند در نواحی ۴۸۰، ۱۹۰ و ۱۶۰ جفت بازی نوع ژنوتیپ را مشخص می‌کند. در نمونه شماره ۱ سه باند در نواحی فوق ذکر ژنوتیپ ID، در نمونه شماره ۲ تک باند ناحیه ۱۹۰ جفت بازی ژنوتیپ DD و در نمونه شماره ۶ وجود دو باند در ناحیه ۴۸۰ و ۱۵۰ جفت بازی ژنوتیپ II را نشان می‌دهد.

جدول ۲: فراوانی‌های ژنوتیپی سه ژنوتیپ DD، ID، II آنزیم مبدل آنژیوتانسین. در کنار تعداد افراد در هر گروه، درصد فراوانی نیز درج شده است.

نام گروه	ACE DD	ACE ID	ACE II	کل
افراد دارای عوارض تنفسی	۹ (۵۰ درصد)	۸ (۴۴/۴۴ درصد)	۱ (۵/۵۶ درصد)	۱۸
افراد بدون عوارض تنفسی	۲ (۱۲/۵ درصد)	۱۱ (۶۸/۷۵ درصد)	۳ (۱۸/۷۵ درصد)	۱۶
کل گروه مورد مطالعه	۱۱ (۳۲/۳۶ درصد)	۱۹ (۵۵/۸۸ درصد)	۴ (۱۱/۷۶ درصد)	۳۴
کنترل	۹ (۳۰/۱۰۰ درصد)	۱۶ (۵۳/۳۳ درصد)	۵ (۱۶/۶۷ درصد)	۳۰

نتایج

چشمی و هم عارضه پوستی بودند. ۲۹/۴ درصد از افراد یا دو عارضه‌ی چشمی و تنفسی و یا دو عارضه‌ی پوستی و تنفسی را به شکل توأم داشتند. همچنین ۸۲/۳ درصد افراد حداقل از یکی از عوارض رنج می‌بردند.

نتایج حاصل از چگونگی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از نمونه های خونی پنج مواجه یافته با گاز خردل در شکل ۱ نشان داده شده است. همچنین ژل‌های تعیین ژنوتیپ (دو نمونه از این ژل‌ها در شکل ۲ آمده است) و برای تمام ۶۴ نفر (۳۴ نفر گروه مورد مطالعه و ۳۰ نفر گروه شاهد) در جدول ۲ ذکر شده است.

همچنین فراوانی‌های ال‌ال D و I در گروه مورد مطالعه، در افراد دارای عوارض تنفسی به ترتیب ۰/۷۲۲ و ۰/۲۷۸ و در افراد بدون عارضه تنفسی ۰/۴۶۹ و ۰/۵۳۱ بود. این فراوانی‌ها در گروه کنترل نیز به ترتیب ۰/۵۶۷ و ۰/۴۳۳ محاسبه شد. با توجه به این فراوانی‌های ال‌ال می‌توان نتیجه گرفت فراوانی ال‌ال D در

با توجه به اطلاعات حاصل از پرسش نامه‌ها میانگین سنی دو گروه مورد مطالعه $(45/91 \pm 12/57)$ و گروه شاهد $(46/0 \pm 13/32)$ تفاوت معنی‌داری را نشان نداد $(p=0/978)$.

همچنین بین دو گروه دارای عوارض تنفسی و بدون این عوارض $(p=0/661)$ ، دو گروه دارای عوارض پوستی و بدون آن $(p=0/989)$ و در دو گروه دارای عوارض چشمی و بدون آن، نیز تفاوت سنی معنی‌داری یافت نشد $(p=0/478)$.

دو گروه مورد مطالعه و گروه شاهد از نظر جنسیتی نیز تفاوت معنی‌داری نداشتند $(p=0/975)$. این تفاوت در میان دو گروه دارا و بدون عوارض تنفسی نیز معنی‌دار نبود $(p=0/787)$. همچنین بین دو گروه دارای عوارض چشمی و بدون آن نیز معنی‌دار نبود $(p=0/839)$. اما در عوارض پوستی این تفاوت بین دو گروه معنی‌دار بود $(p=0/027)$.

در میان افراد مورد مطالعه ۱۴/۷ درصد دارای هر سه عارضه تنفسی، پوستی و چشمی و ۲۰/۶ درصد افراد دارای هم عارضه

افراد دارای عوارض تنفسی به شکل معنی‌داری نسبت به افراد بدون عارضه بیشتر است ($p=0/033$, $x^2=4/55$ و $df=1$).

بین ژنوتیپ ACE و بروز عوارض تنفسی در دو گروه دارای این عوارض و بدون این عوارض رابطه معنی‌داری وجود دارد ($p=0/045$, $x^2=6/22$ و $df=2$) که با توجه به مقدار x^2 و ضریب همبستگی، می‌توان گفت فراوانی ژنوتیپ DD در افراد دارای عوارض تنفسی نسبت به افراد بدون عارضه بیشتر و برای ژنوتیپ II، بالعکس فراوانی در افراد بدون عارضه در مقایسه با افراد دارای عارضه کمتر است. همچنین بین گروه شاهد و گروه مورد مطالعه از نظر ژنوتیپ ACE رابطه معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/852$, $x^2=0/32$ و $df=2$). بین ژنوتیپ ACE و بروز عوارض پوستی نیز رابطه معناداری یافت نشد ($p=0/08$, $x^2=4/87$ و $df=2$). همچنین بین ژنوتیپ ACE و بروز عوارض چشمی نیز رابطه معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/62$, $x^2=0/95$ و $df=2$). لازم به ذکر است که بین ژنوتیپ ACE و بروز عوارض ناشی از گاز خردل در دو گروه دارای سه عارضه تنفسی، چشمی و پوستی و گروه دارای دو عارضه یا کمتر رابطه معنی‌داری یافت نشد ($p=0/729$, $x^2=0/63$ و $df=2$). همچنین بین ژنوتیپ ACE و بروز عوارض ناشی از گاز خردل در دو گروه دارای حداقل دو عارضه و گروه دارای یک عارضه و کمتر از آن رابطه معنی‌داری وجود نداشت ($p=0/166$, $x^2=3/59$ و $df=2$).

بحث

اطلاعات حاصل از پرسش نامه برای بررسی بروز سه عارضه دیررس تنفسی، پوستی و چشمی ناشی از مواجهه با گاز خردل نشان داد که ۴۴/۱، ۵۰ و ۵۲/۹ و گروه مورد مطالعه به ترتیب عوارض تنفسی، پوستی و چشمی را بروز دادند. این میزان‌های شیوع در مطالعات دیگری نیز مورد بررسی قرار گرفته است که به برخی از آن‌ها در ادامه اشاره خواهد شد. البته ذکر این نکته لازم است که در این پژوهش به علت محدودیت‌ها، برای محاسبه شیوع عوارض تنها به شکایات بالینی افراد مورد بررسی اکتفا شده است.

در ابتدا میزان بروز عوارض پوستی بررسی می‌شود. در مطالعه‌ای در کرمان که ۹ تا ۱۲ سال بعد از تماس افراد با سلاح‌های شیمیایی مورد بررسی قرار گرفت، در ۶۳/۲ درصد موارد عوارض پوستی مشاهده شد (۲۹). همچنین در مطالعه‌ای

دیگری بر جمعی از مصدومان شیمیایی سردشت، شیوع بروز عوارض پوستی ۳۱/۵ درصد گزارش شد (۳۰). در مطالعه‌ای دیگر که در شهر بابل، ۱۳ تا ۱۶ سال پس از تماس با گاز خردل، بر عوارض و علائم پوستی انجام شد، نشان داد که در معاینه‌ی بالینی ۸۹/۹ درصد افراد به نوعی دچار ضایعات پوستی بودند (۳۱). در پژوهشی دیگر، ۱۴ تا ۲۰ سال پس از تماس، بر روی ۸۰۰ نفر از جانبازان شیمیایی از استان‌های مختلف کشور مشاهده شد که در ۹۳/۴ درصد این افراد، ضایعات غیراختصاصی پوستی وجود دارد (۳۲). همچنین در پژوهشی بر ۵۰۰ مرد مصدوم شیمیایی ۳۰ تا ۵۰ ساله از استان‌های مرکزی، قم و استان‌های شمالی ایران مشاهده شد که ۹۹/۲ درصد دارای عوارض پوستی بودند (۱۱). با توجه به تمامی مطالعات یاد شده، میزان بروز عوارض پوستی در جمعیت‌های مختلف دارای شیوع متفاوتی است. این علت تفاوت می‌تواند به دلایل مختلف باشد. اثرات پوستی ناشی از مواجهه با گاز خردل به مقدار ماده شیمیایی، مدت تماس با آن، نوع گاز خردل (گاز یا مایع)، درجه رطوبت پوست، ضخامت و سطح پوست، سالم بودن یا نبودن پوست و حرارت محیط بستگی دارد (۳۳). در واقع میزان بروز عوارض پوستی در جمعیت‌های مختلف از مواجهه‌یافتگان با گاز خردل بین ۳۰ تا ۹۹ درصد متغیر می‌باشد و جمعیت مورد مطالعه این پژوهش مقدار بروز متوسطی را نشان داده است.

در مورد میزان بروز عوارض تنفسی هم مطالعاتی انجام شده که میزان بروز این عوارض را بررسی کردند. در مطالعه‌ای بر جمعی از مصدومان شیمیایی سردشت، شیوع بروز عوارض تنفسی ۴۵/۸ درصد گزارش شد (۳۰). در مطالعه‌ای دیگر در بررسی جانبازان شیمیایی مواجهه یافته با گاز خردل در استان‌های شمالی، مرکزی و قم میزان بروز عوارض تنفسی ۶۹/۲ درصد اعلام شد (۱۱). در مطالعه‌ای بر جمعی از مواجهه یافتگان در میوان استان کردستان، میزان بروز علائم اولیه تنفسی ۹۶/۶ درصد اعلام شد (۱۲). در پژوهشی در تهران بر روی ۱۳۳۷ مرد مصدوم شیمیایی، میزان بروز تجمع عوارض ریوی در مصدومین مواجهه یافته با گاز خردل ۳۱/۶ درصد اعلام شد (۱۰). در زمینه بروز عوارض تنفسی نیز تفاوت‌های زیادی در میزان بروز در جمعیت‌های مختلف وجود دارد. در واقع اثرات گاز خردل بر روی ریه بستگی به مدت مواجهه و غلظت گاز در

هوا دارد. در شرایط محیطی گرم عوارض ریوی بی‌شتر می‌شود (۳۴). در مورد عوارض تنفسی نیز جمعیت مورد مطالعه ما مقدار متوسطی از میزان شیوع را نشان داده است.

در مورد میزان بروز عوارض چشمی نیز مطالعات مختلفی صورت گرفته است. در مطالعه‌ای بر جمعی از مواجه‌یافتگان ۱۵ سال پس از تماس با گاز خردل، ۸۰ درصد افراد دارای درجات متفاوتی از عوارض چشمی بودند (۱۱). در مطالعه‌ای دیگر بر جانبازان شیمیایی شهر سردشت، ۳۷/۷ درصد از آنان با مشکلات ناشی از عوارض دیررس چشمی درگیر بودند (۳۰). در پژوهشی، شیوع آثار سمی دیررس گاز خردل بر چشم در میان جمعی از جانبازان کشور عزیزمان ۷۸ درصد اعلام شد (۳۵). در مطالعه‌ای جانبازان شیمیایی استان خراسان، میزان بروز عارضه‌های چشمی ۹۸/۸ درصد اعلام شد (۷). در پژوهشی دیگر در استان کردستان، شیوع عوارض چشمی ۸۹/۳ درصد گزارش شد (۱۲). مطالعه ما همچنین با میزان متوسطی از بروز عوارض چشمی مطابقت دارد. در واقع شرایط متغیر زیادی برای این بروز متفاوت وجود دارد. شدت و وسعت آسیب چشمی به دوز و مدت زمان تماس با خردل و دمای محیط بستگی دارد (۳۶).

با بررسی ژنوتیپ ژن ACE از طریق PCR و ژل الکتروفورز آگارز پیرو آن و سپس آنالیز آماری توسط نرم افزار SPSS ثابت شد که ژنوتیپ DD از ACE با بروز عوارض تنفسی دیررس ناشی از گاز خردل مرتبط است. گرچه میزان p-value در مرز عدم تایید است، اما همان‌طور که در قسمت نتایج نیز ذکر شده، این ارتباط در سطح الی مشخص‌تر می‌باشد. گرچه این نتیجه با مطالعه خلیلی و همکارانش (۱۴) مطابقت ندارد (احتمالاً به دلیل جمعیت مورد مطالعه متفاوت، کم بودن تعداد افراد مورد بررسی در این پژوهش و استفاده از اندازه‌گیری پارامترهای تنفسی توسط اسپرومتر در مطالعه دکتر خلیلی)، یک‌سری مطالعات وجود دارد که رابطه بین ژنوتیپ ACE را با برخی از عوارض تنفسی (با منشا غیر از گاز خردل) بررسی کرده‌اند که برخی نتیجه حاصل از این پژوهش را تایید می‌کنند که در ادامه به برخی از آن‌ها اشاره خواهد شد (۱۴).

در مطالعه‌ای که محققان رابطه ژنوتیپ ACE را با بروز سندرم دیسترس تنفسی حاد بررسی کرده‌اند، به این نتیجه رسیدند که فراوانی ژنوتیپ DD در افراد دارای این سندرم به شکل

معنی‌داری نسبت به افراد کنترل بالاتر است. با در نظر گرفتن این مطلب که سیستم RAS که ACE یکی از اجزای اصلی آن است، نقشی اساسی در بروز این سندرم ایفا می‌کند و از طرفی الل D با فعالیت بالای ACE مرتبط است؛ افزایش فعالیت ACE روند بیماری دیسترس تنفسی حاد را در سلول‌ها و بافت ریوی و غیرریوی تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳۷).

محققان در مطالعه‌ای دیگر، در بررسی رابطه میان الل D ژن ACE و نقص ریوی غیر عفونی دریافتند که الل D در پیشرفت این دسته از بیماری‌های تنفسی نقش دارد. با توجه به این که سیستم رنین آنژیوتانسین ریوی نقش مهمی در توسعه فیبروز بافت ریه دارد و یکی از عوارض مهم تنفسی ناشی از گاز خردل نیز فیبروز ریوی است، این پژوهش نیز نتایج حاصل از این مطالعه را تایید می‌کند. همگام با نقش سیستم رنین آنژیوتانسین در پاسخ به آسیب فیبروتیک ریه، این مطالعه نقش برجسته و مهم سیستم رنین آنژیوتانسین به‌ویژه در پاسخ فیبروتیک حاد یا مزمن به آسیب ریه را نشان می‌دهد (۳۸ و ۳۹).

در مطالعه‌ای دیگر، این نتیجه حاصل شد که ژنوتیپ DD ژن ACE به‌طور قابل توجهی، شانس ابتلا به آسم را افزایش می‌دهد. در حقیقت ژنوتیپ DD از ACE ممکن است یک عامل خطر برای انسداد راه‌های هوایی و عامل دخیل در پاتوژنز پاسخ بیش از حد برونشی باشد (۴۰). این مطالعه نیز با یافته‌ی حاصل از پژوهش ما مطابقت دارد چون قبلاً اثبات شده است که یکی از عوارض تنفسی شایع دیررس ناشی از مواجهه با گاز خردل آسم و مشکلات برونشی است. در حقیقت آنزیم مبدل آنژیوتانسین که آنژیوتانسین I را به آنژیوتانسین II تبدیل می‌کند از طریق میان‌کنش با عضلات برونشی موجب آسم می‌شود (۳۹ و ۴۱).

در مطالعه‌ی دیگری که بر روی نوزادان زودرس انجام شد، این نتیجه حاصل گردید که الل D با خطر ابتلا به دیسپلازی برونشی‌ریوی ارتباط دارد (۴۲). این یافته نیز با نتایج ما سازگار است. یکی از مکانیسم احتمالی که الل D از ACE بر خطر یا شدت دیسپلازی برونشی ریوی تاثیر دارد ممکن است از طریق تولید سطوح بالاتری از ACE و محصول آنژیوتانسین II باشد که این سطوح بالاتر التهاب ریه‌ی همراه با بازسازی عروقی را تشدید می‌کند.

در مطالعه‌ای دیگر که بر روی تعدادی از افرادی که جراحی

افراد بدون عارضه تنفسی داشتند. در واقع وجود ال D در فرد مواجه یافته می‌تواند یک علامت خطر از بروز این دسته عوارض باشد. همچنین میزان بروز عوارض تنفسی، پوستی و چشمی در مصدومان شیمیایی این روستا به ترتیب ۵۲/۹، ۵۰ و ۴۴/۱ درصد بود که نشان از این مطلب دارد که در مورد هر عارضه، حدود نیمی از جانبازان شیمیایی این روستا دچار آسیب و رنج هستند. ذکر این نکته لازم است که به دلیل تعداد کم نمونه‌های مورد بررسی و میزان p-value نزدیک به مرز عدم تایید، انجام بررسی‌های بیشتر ضرورت دارد.

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله مؤلفین مقاله از زحمات سرکار خانم مریوانی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

مری انجام داده بودند، نشان داد که بین ژنوتیپ DD و پیشرفت عارضه‌های تنفسی ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۴۳). این یافته نیز با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. به‌طور کلی پلی‌مورفیسم I/D ژن ACE تحت تاثیر ژن‌های مرتبط با التهاب و نتایج مربوط به آن‌ها قرار گرفته و در تفاوت استعداد افراد برای عوارض ریوی نقش دارد. پس می‌توان با توجه به وضعیت بالینی بیمار و زمینه‌ی ژنتیکی بیمار پیش‌بینی دقیقی را از عوارض ریوی جهت درمان مناسب داشت (۴۳)

نتیجه‌گیری

طبق تمامی داده‌های موجود در این پژوهش، احتمالاً ژنوتیپ ACE با بروز عوارض تنفسی ناشی از مواجهه با گاز خردل در مصدومان شیمیایی روستای زرده استان کرمانشاه رابطه داشته و افراد با عوارض ریوی فراوانی ژنوتیپی DD بالاتری نسبت به

منابع

1. Wattana M, Bey T. Mustard gas or sulfur mustard: an old chemical agent as a new terrorist threat. *Prehosp & Disast Med*. 2009; 24(1): 19-29.
2. Kehe K, Szinicz L. Medical aspects of sulphur mustard poisoning. *Toxicol*. 2005; 214(3): 198-209.
3. Khateri S, Ghanei M, Keshavarz S, Soroush M, et al. Incidence of lung, eye, and skin lesions as late complications in 34,000 Iranians with wartime exposure to mustard agent. *Occup & Environ J Med*. 2003; 45(11): 1136-43.
4. Korkmaz A, Yaren H, Topal T, Oter S. Molecular targets against mustard toxicity: implication of cell surface receptors, peroxynitrite production, and PARP activation. *Arch of Toxicol*. 2006; 80(10): 662-70.
5. Borak J, Sidell FR. Agents of chemical warfare: sulfur mustard. *Ann of Emerg Med*. 1992; 21(3): 303-8.
6. Asai K, Kanazawa H, Kamoi H, Shiraiishi S, et al. Increased levels of vascular endothelial growth factor in induced sputum in asthmatic patients. *Clin & Exp Allergy*. 2003; 33(5): 595-9.
7. Gilasi H, Holakouie Naieni K, Zafarghandi M, Mahmoudi M, et al. Relationship between mustard gas and cancer in Iranian soldiers of imposed war in Isfahan Province: A Pilot Study. *J of Sch of Public Health and Inst of Public Health Res*. 2006; 4(3): 15-23.
8. Emadi N, Soroush M, Moinoldin F, Davoudi S, et al. Atrophy and poikiloderma after skin contact with mustard gas: a case report. *IR J Dermatol*. 2007; 10(42): 345-52.
9. Davoudi M, Shohrati M, Sadr B. Prevalence of skin tumors in chemically Iranian veterans in 17 province compared with the normal population. *J Army Univ Med Sci IR*. 2006; 4(1): 751-4.
10. Karimi Zarchi A, Holakouie Naieni K. Long term pulmonary complications in Iranian veterans exposed to sulfur mustard: a historical cohort study. *J Sch Public Health Inst Public Health Res*. 2002; 1(4): 15-22.
11. Agin Kh, Ghasemi Broumand M. Epidemiological relationship with late complications of sulfur mustard gas on 500 Iranian chemically injured after 15 years. *J Army Univ Med Sci IR*. 2004; 2(1): 269-73.
12. Ghasemi Broumand M, Agin Kh, Amiri Z. Late ocular and pulmonary complications in chemically injured veterans with mustard gas referred to Institute of Medicine committees in 2001. *Bina J Ophthalmol*. 2003; 9(2): 165-71.
13. Montani JP, Vliet VB. General physiology and pathophysiology of the renin-angiotensin system. *Angiotensin Vol. I: Springer*; 2004: 3-29.
14. Hosseini khalili AR, Thompson J, Kehoe A, Hopkinson NS, et al. Angiotensin-converting enzyme genotype and late respiratory complications of mustard gas exposure. *BMC Pulm Med*. 2008; 8(1):15.
15. Crisan D, Carr J. Angiotensin I-converting

- enzyme: genotype and disease associations. *J of Mol Diagn.* 2000; 2(3): 105.
16. Sayed Tabatabaei F, Oostra B, Isaacs A, Van Duijn C, et al. ACE polymorphisms. *Circ Res.* 2006; 98(9): 1123-33.
17. Rigat B, Hubert C, Alhenc Gelas F, Cambien F, et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J of Clin Investig.* 1990; 86(4): 1343.
18. Harding D, Baines PB, Brull D, Vassilion V, et al. Severity of meningococcal disease in children and the angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism. *Am J of Respir & Crit Care Med.* 2002; 165(8): 1103-6.
19. Harding D, Dhamrait S, Marlow N, Whitelaw A, et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype is associated with worse perinatal cardiorespiratory adaptation in preterm infants. *J of Pediatr.* 2003; 143(6): 746-9.
20. Hopkinson NS, Nickol AH, Payne J, Hawe E, et al. Angiotensin converting enzyme genotype and strength in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J of Res & Crit Care Med.* 2004; 170(4): 395-9.
21. Reneland R, Lithell H. Angiotensin-converting enzyme in human skeletal muscle. A simple in vitro assay of activity in needle biopsy specimens. *Scand J of Clin & Lab Investig.* 1994; 54(2): 105-11.
22. Reneland R, Haenni A, Andersson PE, AndrEn B, et al. Skeletal muscle angiotensin-converting enzyme and its relationship to blood pressure in primary hypertension and healthy elderly men. *Blood Press.* 1999; 8(1): 16-22.
23. Brull D, Sanders J, Rumley A, Lowe G, et al. Impact of angiotensin converting enzyme inhibition on post-coronary artery bypass interleukin 6 release. *Heart.* 2002; 87(3): 252-5.
24. Elferink JG, Koster BM. The stimulation of human neutrophil migration by angiotensin II: its dependence on Ca²⁺ and the involvement of cyclic GMP. *Br J of Pharmacol.* 1997; 121(4): 643-8.
25. Kranzhofer R, Browatzki M, Schmidt J, Kubler W. Angiotensin II activates the proinflammatory transcription factor nuclear factor- B in human monocytes. *Biochem & Biophys Res commun.* 1999; 257(3): 826-8.
26. Pueyo ME, Gonzalez W, Nicoletti A, Savoie F, et al. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor- B activation induced by intracellular oxidative stress. *Arteriosclerosis, Thromb, & Vasc Biol.* 2000; 20(3): 645-51.
27. Zakheim R, Mattioli L, Molteni A, Mullis K, et al. Prevention of pulmonary vascular changes of chronic alveolar hypoxia by inhibition of angiotensin I-converting enzyme in the rat. *J of Tech Methods & Pathol.* 1975; 33(1): 57-61.
28. Munhoz TP, Scheibe RM, Schmitt VM. Angiotensin converting enzyme (ACE) DD genotype: relationship with venous thrombosis. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2005; 27(2): 87-90.
29. Fekri A. Late cutaneous complications in chemical warfare victims in Kerman province. *J of Kerman Univ of Med Sci.* 1995; 2(3): 108-19.
30. Ghassemi Broumand M, Aslani J, Emadi SN. Delayed ocular, pulmonary, and cutaneous complications of mustards in patients in the city of Sardasht, Iran. *Cutan & Ocul Toxicol.* 2008; 27(4): 295-305.
31. Rezvani SM, Mahmoodipour A. Complications and symptoms of skin in chemically injured war (dermatology clinic of Yahyanejad Babol 1380-1382). *Babol Univ Med Sci.* 2003; 8(2): 74-82.
32. Emadi SN, Mortazavi M, Mortazavi H. Late cutaneous manifestations 14 to 20 years after wartime exposure to sulfur mustard gas: a long-term investigation. *Arch of Dermatol.* 2008; 144(8): 1059-61.
33. Pechura C.M, Rall D.P. Veterans at risk: the health effects of mustard gas and lewisite. National Academies. (eds); 1993.
34. Easton D, Peto J, Doll R. Cancers of the respiratory tract in mustard gas workers. *Br J of Ind Med.* 1988; 45(10): 652-9.
35. Balali Mood M, Hefazi M. A review on the delayed complications of sulphur mustard poisoning. *J of Birjand Univ of Med Sci.* 2006; 12(3&4).
36. Vidan A, Luria S, Eisenkraft A, Hourvitz A. Ocular injuries following sulfur mustard exposure: clinical characteristics and treatment. *Isr Med Assoc J.* 2002; 4(7): 577-8.
37. Marshall RP, Webb S, Bellingan GJ, Montgomery HE, et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with susceptibility and outcome in acute respiratory distress syndrome. *Am J of Res & Crit Care Med.* 2002; 166(5): 646-50.
38. Onizuka M, Kasai M, Oba T, Atsuta Y, et al. Increased frequency of the angiotensin-converting enzyme gene D-allele is associated with noninfectious pulmonary dysfunction following allogeneic stem cell transplant. *Bone Marrow Transpl.* 2005; 36(7): 617-20.

39. Emad A, Rezaian GR. The Diversity of the Effects of Sulfur Mustard Gas Inhalation on Respiratory System 10 Years After a Single, Heavy Exposure Analysis of 197 Cases. *Chest J.* 1997; 112(3): 734-8.
40. Gao J, Lin Y, Xiao Y, Xu K, et al. Polymorphism of angiotensin-converting enzyme gene and genetic susceptibility to asthma with familial aggregation. *Chin Med Sci J= Chung-kuo i hsueh k'o hsueh tsa chih/Chin Acad of Med Sci.* 2000; 15(1): 24-8.
41. Lue KH, Ku MS, Li C, Sun HL, et al. ACE gene polymorphism might disclose why some Taiwanese children with allergic rhinitis develop asthma symptoms but others do not. *Pediatr Allergy & Immunol.* 2006; 17(7): 508-13.
42. Kazzi SNJ, Quasney MW. Deletion allele of angiotensin-converting enzyme is associated with increased risk and severity of bronchopulmonary dysplasia. *J of Pediatr.* 2005; 147(6): 818-22.
43. Lee JM, Lo AC, Yang SY, Tsau HS, et al. Association of angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism with serum level and development of pulmonary complications following esophagectomy. *Ann of surg.* 2005; 241(4): 659.

Archive of SID

Studies of relationships between angiotensin converting enzyme (ACE) genotype and produced late complications by Sulfur mustard in Kermanshah Zardeh Village chemical exposed people

Hamta A, Ph.D.1*, Fouladi Mansouri H, M.Sc.2

1- Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak 38156-8-8349

2- M.Sc. of Genetics, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak

* Email corresponding author: a-hamta@araku.ac.ir

Received: 25 Jan. 2016

Accepted: 16 Feb. 2016

Abstract

Aim: Sulfur mustard (SM) is an alkylating agent which targets skin, eyes and respiratory systems. Also, an insertion/deletion polymorphism in angiotensin converting enzyme (ACE) gene has been studied in relation to cardiovascular diseases and lung fibrosis. In pulmonary fibrosis, D-allele frequency is higher than in comparison with control. So, the aim of this research was studying relationship between ACE genotype and late respiratory complications of mustard gas in Kermanshah Zardeh Village chemical exposed people.

Material and Methods: Blood samples of thirty-four people of Kermanshah Zardeh Village, whose were exposed to mustard gas as a case study and thirty people of Eslam Abad Gharb in Kermanshah Province as control, were taken. Further information about the existence of respiratory, skin and ocular delayed effect of exposure to the mustard gas, were collected by questionnaires. ACE genotype was determined using polymerase chain reaction amplification (PCR) and subsequent agarose gel electrophoresis.

Results: Incidence of respiratory, skin and eye complications were 52.9%, 50% and 44.1% respectively. Genotype frequencies for the three genotypes DD, ID and II in case group of people with pulmonary complications were 0.5, 0.44 and 0.06 respectively, in people without this complications 0.12, 0.69 and 0.19 and in the control group were 0.3, 0.53 and 0.17 respectively. It was found that the DD genotype in patients with respiratory symptoms were higher than those without complications ($\chi^2=6.22$, $p=0.045$, $df=2$).

Conclusion: The results showed that DD genotype of ACE gene increases the risk of respiratory complications of mustard gas.

Keywords: Angiotensin, genotype, Mustard gas, Kermanshah Zardeh Village