Archive of SID

لوکالیزاسیون پروتئین هم‌واکسیژناز در دیواره راه هوایی مصدومین با گاز خردل

محمدرضا نورانی[1]، لیلا میرباقری[1و2]، مهریار حبیبی رودکنار[3]، مجید ابراهیمی[1]، سمانه یزدانی[1]، عباسعلی ایمانی فولادی[4*]

۱آزمایشگاه ژنومیک، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، تهران، ۲گروه بیوشیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، ۳مرکز تحقیقات، سازمان انتقال خون ایران، تهران، ۴مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(عج)، تهران.

*نویسنده پاسخگو: تهران- میدان ونک، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، ۴مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی

چکیده

مقدمه: سولفورموستارد (SM) به عنوان یک عامل شیمیایی جنگی شناخته‌شده و مکررا" توسط رژیم بعثی عراق علیه ایران مورد استفاده قرارگرفت. در حال حاضر بیش از ۴۰۰۰۰ مصدوم شیمیایی به‌جا مانده از جنگ تحمیلی از ضایعات ریوی ناشی از گاز خردل رنج می‌برند. این ترکیب سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود که فعال‌شدن مولکول‌های التهابی را به دنبال‌دارد. یکی از پروتئین‌های بسیار مهم که اثرات مضر رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد مولکول هم‌اکسیژناز (HO) است که در بسیاری از عملکردهای سلولی دخالت دارند و مهمترین ویژگی‌شان نقش آن‌ها به عنوان متعادل‌کننده استرس‌های اکسیداتیوی در سیستم تنفسی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۱۲ نمونه بیوپسی راه‌هوایی (۸ نمونه شیمیایی و ۴ نمونه کنترل) پس از تثبیت در پارافرمالدئید برش‌های ۲۰میکرونی توسط کرایواستات تهیه‌گردید. میزان حضور مولکول HO1، یکی از پلی‌مورفیسم‌های HO با روش ایمونوهیستوشیمی در نمونه‌های جانبازان شیمیایی و کنترل بررسی و مورد مقایسه قرار رفتند.

یافته‌ها: در مقایسه با بیان پایه مولکول HO در دیواره راه‌هوایی نمونه‌های کنترل، عکس‌العمل نمونه‌های شیمیایی نسبت به آنتی‌بادی هم‌اکسیژناز در اپی‌تلیوم دیواره را هوایی منفی است.

نتیجه‌گیری: با توجه به این‌که مولکول HO نقش مهمی را در حفاظت سلول بر علیه استرس‌های اکسیداتیو از جمله مسمومیت با سولفور موستارد بازی می‌کنند. پس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که عدم‌حضور این عامل محافظت‌کننده ممکن است دلیلی برای مزمن‌شدن و تداوم بیماری مزمن انسدادی ریوی در جانبازان شیمیایی باشد.

کلید واژه: سولفور موستارد، هم‌اکسیژناز، اکسیدانت/آنتی اکسیدانت، ایمونوهیستوشیمی

تاریخ دریافت:۸۹/۲/۱

تاریخ پذیرش:۸۹/۳/۴

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گاز خردل یا سولفور موستارد ترکیبی سیتوتوکسیک است که از آن در ساخت سلاح‌های شیمیایی استفاده می‌شود. این ترکیب در جنگ جهانی اول و اخیرا نیز در جنگ ایران و عراق استفاده‌شد و انسان‌های زیادی درگیر عواقب و ناهنجاری‌های ناشی از آن شدند. در جنگ ایران و عراق، بیش از ۱۰۰۰۰۰ ایرانی در معرض این گاز قرارگرفتند. پوست، چشم، سیستم تنفسی، سیستم عصبی مرکزی و مغز استخوان از مهمترین اندام‌هایی هستند که درگیر عوارض کوتاه‌مدت گاز خردل می‌شوند، اما ضایعات سیستم تنفسی، پوست و چشم از عوارض مزمن آن می‌باشند و هم اکنون حدود یک سوم آن‌ها از عوارض مزمن ریوی آن رنج می‌برند.(۲و۱) بیش از ۷۰سال است که گاز خردل به عنوان یک ماده شیمیایی جنگی شناخته شده‌است، اما تا به حال مکانیسم دقیق اثرات بیولوژیکی آن ناشناخته مانده‌است. گاز خردل با حمله به ترکیبات نوکلئوفیلیک سلولی از جمله ملکول‌های دارای گروه آمین نظیر DNA، RNA و پروتئین‌ها، آن‌ها را آلکیله می‌کند. به این ترتیب با ایجاد شکست در DNA سبب نقص در همانندسازی می‌شود به علاوه در فرآیند ترمیم نیز تداخل ایجاد می‌کند. بافت‌هایی که دارای متابولیسم و سرعت تقسیم بالاتری هستند از جمله پوست، دستگاه گوارش و مغز استخوان بیشتر تحت تاثیر اثرات مخرب این گاز هستند.(۳) این ماده شیمیائی به صورت مایع روغنی محلول در حلال‌های آلی و در صورت خلوص بی‌رنگ و دارای بوئی شبیه سیر می‌باشد. این ماده در دوزهای پائین سبب القای آپوپتوز و در دوزهای بالا سبب نکروز بافتی می‌شود.(۴) تماس با گاز خردل منجر به عوارض زودرس و دیررس می‌شود که نارسائی‌های ریوی مهمترین عارضه ثانویه بوده و عامل اصلی ناتوانی و مرگ و میر در مصدومین مسموم شده با گاز خردل می‌باشد. مطالعات مختلف نشان داده‌است که این بیماران علائم بیماری ریوی موسوم به برونشیولیت انسدادی را نشان می‌دهند.(۷-۵) هم‌چنین مطالعات نشان می‌دهد که این افراد مستعد بیماری‌های ریوی مزمن نظیر آسم، برونشیت مزمن و برونشکتازی هستند. مطالعه دیگری بر پایه HRCT نشان می‌دهد که در این افراد، قطورشدن دیواره برونش‌ها ناشی از آسیب وارده توسط سولفور موستارد است.(۸)

سولفور موستارد با گلوتاتیون (GSH) داخل سلولی واکنش‌داده و سبب اتمام یا کاهش میزان آن در داخل سلول می‌شود. با کاهش GSH، میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن(ROS) افزایش پیدا می‌کند.(۹) این‌گونه رادیکال‌های مضر موجب آسیب‌رسانی اکسیداتیو در شماری از ترکیبات سلولی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند(۱۰) و در نهایت این وقایع آسیب‌رسان ایجادشده توسط سولفور موستارد، موجب فعال‌شدن پاسخ‌های اکسیداتیو استرس می‌شوند.(۱۱) استرس اکسیداتیو و التهاب مزمن عوامل مهم در ایجاد بیماری ریوی انسدادی مزمن(COPD) است،(۱۳و۱۲) رادیکال‌های آزاد و فشارهای اکسیداتیو توسط برخی آنتی‌اکسیدان‌ها مهار می‌شوند.(۱۴)

رادیکال آزاد

رادیکال‌های آزاد بیشتر از طریق محیط و در اثر فعالیت‌های زیستی و زیست شناسی موجودات زنده بوجود می آیند رادیکال آزاد به اتم یا ملکولی گفته می‌شود که دارای حداقل یک الکترون جفت نشده‌باشد و بتواند به‌طور مستقل وجود داشته‌باشد. یک چنین ماده‌ای از نظر انرژی ناپایدار می‌باشد و طول عمر کوتاهی دارد. بنابراین با حذف و یا جفت‌کردن الکترون‌های اطرافش، می‌تواند به پایداری برسد. باقیمانده مولکولی که مورد حمله این رادیکال قرارگرفته، یک الکترون جفت‌نشده دارد و یک رادیکال آزاد محسوب می‌شود و بدین ترتیب حضور یک رادیکال آزاد می‌تواند منشاء یک سری واکنش‌های زنجیره‌ای انتقال الکترون شود.

اکسیژن فعال که توسط عملکرد معمول اجزاء سلول‌ها هم‌چون میتوکندری و متابولیسم آن تولید می‌شود، از راه‌های مختلف به پروتئین و چربی و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌رساند. مهمترین مکانیسم‌های آسیب‌رسانی عبارتند از آسیب‌رسیدن به اسیدهای نوکلئیک و DNA و ایجاد جهش، آسیب و تخریب پروتئین‌ها، اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع موجود در غشاء و تغییر در ساختمان و فعالیت غشاء.(۱۵)

نقش رادیکال‌های آزاد در بیماری‌های راه هوایی

اپی‌تلیوم راه هوایی می‌تواند مستقیماً ROS/RNS تولید کند. سلول‌های اپی‌تلیالی نای و برونش در پاسخ به تحریکات H2O2 آزاد می‌کنند. به علاوه این سلول‌ها قادر

www.SID.ir

Archive of SID

به تولید ROS/RNS درون سلولی نیز می‌باشند که به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان عمل می‌کنند و تغییراتی را در ترشح موکوس به دنبال دارند. برهم کنش‌های فیزیولوژیکی دفاعی که در راههای هوایی در پاسخ به ذرات تنفسی اتفاق می‌افتد، در التهاب راه‌های هوایی و بیماری‌های ریوی نقش دارند. گرچه مکانیسم دقیق این استراتژی دفاعی که سبب بیماری‌های التهابی راه‌های هوایی نظیر آسم آلرژیک و غیرآلرژیک، برونشیت مزمن، بیماری ریوی انسدادی مزمن (COPD)، سیستیک فیبروزیز و سندرم نقص تنفسی حاد (ARDS) می‌شود، هنوز کاملاً مشخص نشده‌است، اما به نظر می‌رسد تغییرات در بیان ژن‌های درگیر در التهاب و در نهایت بیان محصولات آن‌ها، نقش مهمی را در این فرایند ایفا می‌کند. ROS/RNS نقطه حیاتی در مسیرهای پیام‌رسان القایی کنترل‌کننده بیان پروتئین‌های ایجاد کننده التهاب می‌باشند. اپی‌تلیوم راه هوایی به حضور ROS/RNS پاسخ می‌دهد که این پاسخ‌ها شامل افزایش موکوس، بیان مولکول‌های چسبنده و آزادسازی سیتوکین‌هاست و اغلب این تغییرات با تغییر بیان ژن‌ها در سلول تنظیم می‌شود.

هم‌اکسیژناز یک آنزیم تخریب‌کننده Heme است و دارای نقشی موثر در دفاع سلول در برابر استرس اکسیداتیو است. هم‌اکسیژناز (Hemeoxygenase) نقش‌های حیاتی را در فیزیولوژی هموستازیس آهن بازی می‌کند.(۱۶)

آنزیم هم اکسیژناز

Hemeoxygenase (HO) یک آنزیم میکروزومال است که به‌صورت اکسیداتیو باعث شکست heme و تولید بیلی وردین، منوکسید کربن و آهن می‌شود.(۱۷)

در سال ۱۹۶۸برای اولین بار آنزیم هم‌اکسیژناز در میکروزوم‌های طحال، کبد، کلیه و مغز استخوان توسط Schmid و همکارانش کشف شد و اکنون نیز عملکرد هم‌اکسیژناز میکروزومال در کاتابولیسم فیزیولوژیکی Heme کاملا پذیرفته شده است.(۱۸)

هم‌اکسیژناز یک آنزیم تخریب‌کننده Heme است و دارای نقشی موثر در دفاع سلول در برابر استرس اکسیداتیو القاء شده توسط مولکول Heme است. این آنزیم حلقه پورفیرین را به بیلی‌وردین، آهن آزاد (+Fe2) و مونوکسیدکربن (Co) می‌شکند در پستانداران بیلی‌وردین به سرعت توسط بیلی‌وردینردوکتاز به بیلی‌وردین تبدیل می‌شود.

تاکنون سه ایزوفرم از HO شناخته شده: HO-1، HO-2 و HO-3 که توسط ژن‌های مختلف کد می‌شوند و بیان و تنظیم آن‌ها در سلول‌ها و بافت‌های مختلف متفاوت است. این آنزیم‌ها بعلت نداشتن بخش هیدروفوبیک در انتهای cترمینال خود پروتئین‌هایی محلول هستند.(۱۹)

بیان هم‌اکسیژناز۱ بصورت فعال توسط هیپوکسیا، H2O2، تهی‌شدن گلوتاتیون سلول و Heme القاء می‌شود، القاء این آنزیم باعث محافظت سلول از آسیب‌های ناشی از کم‌خونی موضعی، استرس اکسیداتیو، التهاب، جراحات پیوندی، آپوپتوز و بسیاری شرایط دیگر می‌شود، مولکول Heme باعث افزایش بیان HO-1 می‌شود که در نتیجه آن آنزیم هم‌اکسیژناز۱ که یک آنتی‌اکسیدان قوی محسوب می‌شود با تبدیل مولکول‌های Heme توکسیک به مولکول‌های موثری چون CO، بیلی‌روبین و فریتین خاصیت ضدتوکسیک خود را اعمال می‌کند. بیلی‌روبین تولید شده در اثر عمل هم‌اکسیژناز۱ نیز دارای خصوصیات فیزیولوژیک آنتی اکسیدانی می‌باشد به‌طوری‌که رادیکال‌های پیروکسیل را جمع‌آوری می‌کند و بنابراین از پراکسیداسیون لیپیدی ممانعت می‌کند. هم‌چنین در برابر جراحات اکسیداتیو و التهابات خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشته و خطر بیماری‌های عروق کرونر را کاهش می‌دهد.(۲۰)

CO دیگر مولکول تولیدشده در اثر عمل هم‌اکسیژناز۱ نیز با کنترل فعالیت پروتئین‌های حاوی Heme هم‌چون سیتوکروم P450، سیکلواکسیژناز، گوانیل‌سیکلاز و NOسنتتاز دارای عملکردی منحصر به فرد می‌باشد به عنوان مثال مونوکسیدکربن با اتصال به جایگاه فعال گوانیل‌سیکلاز، سبب تبدیل گوانوزین‌تری‌فسفات به گوانوزین 3و5 سیکلیک مونو فسفات می‌شود و در نهایت سبب Vasodilatation می‌گردد.(۲۱) و اخیرا گزارش شده‌است که ژن HO-1 در سلول‌های اپی‌تلیال ریه انسان تحت تاثیر TGF-B1 بیان می‌شود و نقش محافظتی در بیماری‌های ریه بازی می‌کند .(۲۲)

با توجه به این‌که تغییر ساختار راه هوایی (Airway Remodeling) در جانبازان شیمیایی احتمال دارد ناشی از افزایش سطح استرس‌های اکسیداتیوی باشد در این پروژه قصد داریم تا سطح بیان پروتئین گلوتاسیون‌اس-ترانسفراز را در اپی‌تلیوم راه هوایی جانبازان شیمیایی با روش ایمونوهیستوشیمی بررسی و با نمونه‌های کنترل مقایسه کنیم.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

جامعه مورد مطالعه: جامعه مورد مطالعه شامل دو گروه مصدومین شیمیائی دارای سابقه مواجهه با سولفور موستارد و افراد کنترل بود. گروه مصدومین شامل افرادی بودند که به دلیل ناراحتی‌های ریوی ناشی از مسمومیت مستند قبلی با سولفور موستارد در جنگ تحمیلی و با تایید پزشکان فوق تخصص ریه انتخاب شدند. گروه کنترل نیز شامل افرادی بودند که به دلیل ناراحتی ریوی و به دستور پزشک متخصص تحت عمل برونکوسکوپی قرار می‌گرفتند، ولی براساس عکس‌های ریوی (اسکن ریه) و داده‌های برونکوسکوپی هیچ‌گونه عارضه شناخته شده‌ی ریوی را نشان نمی‌دادند. افراد سیگاری، بیماران مبتلا به سرطان ریه، آسم، سل و افراد مسن از مطالعه ما حذف شدند.

نمونه گیری: نمونه‌های بیوپسی از دیواره برنش این تحقیق از بخش برونکوسکوپی مجتمع بیمارستانی بقیه‌الله الاعظم(عج) جمع‌آوری شدند. نمونه‌های مورد نظر پس از اخذ موافقت کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه بقیه ا..(عج) و تحت نظارت مستقیم پزشکان فوق تخصص ریه و با پنس‌های مخصوص در حین برونکوسکوپی جمع‌آوری شدند. تعداد ۸ نمونه بیوپسی مصدوم شیمیایی و ۴ نمونه کنترل جهت انجام آزمایشات ایمونوهیستوشیمی جمع‌آوری و در محلول فیکساتیو بافر پارافورمالدئید ۴٪ قراردادیم و سپس به محلول ساکروز ۳۰٪ منتقل کرده و تا انجام آزمایشات در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

مطالعه ایمونوهیستوشیمی: برش‌های یخی از بیوپسی‌ها با میکروتوم کرایواستات به ضخامت ۲۰ میکرومتر تهیه و بر روی اسلایدهای پوشش داده‌شده با سیلان قرارگرفتند. اسلایدهای حاوی برش‌ها را با آنتی‌بادی اولیه مونو کلونال Anti mouse IGg HO1 (شرکت سانتاکروز) با غلظت ۱:۲۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۲ ساعت انکوبه نموده و پس از شستشوی با PBS، آنتی‌بادی ثانویه Biotinilated Anti mouse IGg را به مدت ۱ساعت انکوبه‌کرده و سپس با سیستم اویدین-بیوتین و DAB محل‌های حضور کمپلکس آنتی ژن-آنتی‌بادی قابل رویت‌شده و با میکروسکوپ نوری مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند.

یافته‌ها

مورفولوژی

در یک برنش نرمال سطح داخل برونش چین‌دار و توسط اپی‌تلیوم تنفسی (مطبق کاذب مژه‌دار) پوشیده شده‌است. پشتیبان این اپی‌تلیوم بافت همبند آستر مخاط می‌باشد که به‌وسیله عضلات صاف حلقوی از زیر مخاط تفکیک می‌شود. یعنی در عقب این عضلات صاف، بافت همبند زیر مخاط حاوی اجزای بافت هم‌بند مانند رگ‌ها و اعصاب، غدد سروزی–موکوسی و مجاری این غدد که از آستر مخاط گذشته و به فضای برونش باز می‌شود، مشاهده می‌گردند. هم‌چنین در طبقه زیر مخاط برونش یک یا چند قطعه غضروف شفاف جلب توجه می‌کند. سطح خارجی برونش را یک بافت همبند به نام آدوانتیشیا محدود می‌سازد. در ضخامت این بافت همبند ممکن است مقطع شریان یا ورید ریوی و انشعابات آن دیده‌شود. اطراف برونش تعدادی حباب ریوی دیده می‌شود.

پیوپسی‌های تهیه‌شده از دیواره برنش‌ها حاوی مخاط و آستر مخاط می‌باشد، سلول‌های اپی‌تلیال به‌صورت منظم در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند، سلول‌های گابلت (Gc) به‌صورت حفرات خالی در فواصل بین سلول‌های اپی‌تلیال به چشم می‌خورند. سطح لومینال اپی‌تلیوم از مژه (Ci) پوشیده شده‌است. در بررسی بافت‌شناسی دیواره راه هوایی جانبازان شیمیایی تفاوت آشکاری در ضخامت لایه اپی‌تلیوم نسبت به نمونه نرمال به چشم می‌خورد که ناشی از تغییر ساختار[1] در اثر استنشاق گاز خردل می‌باشد. هایپرتروفی سلول‌های گابلت در لایه اپی‌تلیوم راه هوایی جانبازان شیمیایی نسبت به نمونه‌های نرمال کاملا مشهود است.(شکل شماره۱)

ایمونوهیستوشیمی

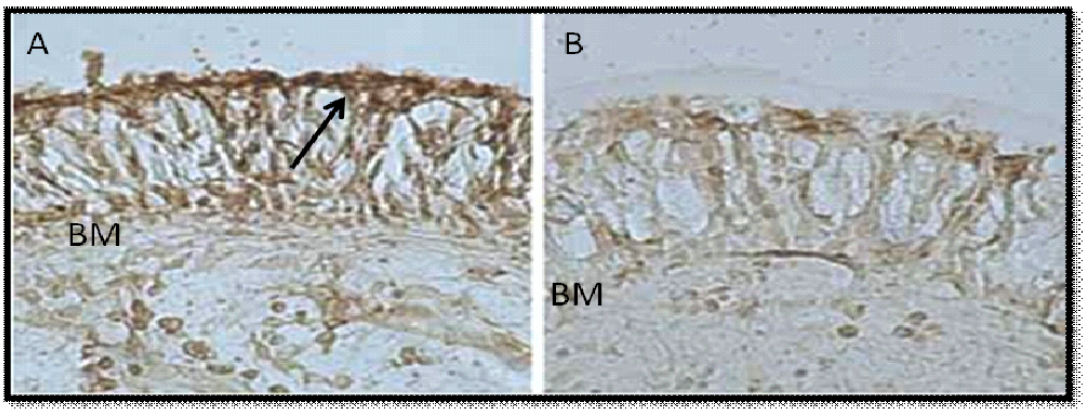
ژن HO-1 در سلول‌های اپی‌تلیال ریه انسان نقش محافظتی در بیماری‌های ریه بازی می‌کند دارای نقشی موثر در دفاع سلول در برابر استرس اکسیداتیو است. بیان این پروتئین در سلول‌های لایه اپی‌تلیال دیواره راه هوایی نمونه کنترل (غیر شیمیایی) شامل سلول‌های استوانه‌ای کاذب مژه‌دار و سلول‌های پایه‌ای مجاور غشا پایه با شدت بالا مشاهده می‌شود. راس سلول‌های مژه‌دار مستقر در کناره لومینال، مولکول HO1 را با شدت بیشتری بیان می‌کنند (شکل شماره۱،A) اما در دیواره راه‌های هوایی

[1] Remodeling

www.SID.ir

Archive of SID

جانبازان شیمیایی این ملکول در حاشیه مژه دار اپیتلیوم راه‌هوایی مشاهده نمی‌شود که بیانگر عدم‌حضور این ملکول مؤثر درحذف‌رادیکال‌های آزاد می‌باشد(شکل ۱،B).



شکل ۱: تصاویر میکروسکوپ نوری از برش‌های بیوپسی راه هوایی انسان که بر علیه آنتی‌بادی هم‌اکسیژناز۱ رنگ‌آمیزی شده‌است را نشان می‌دهد. در لایه اپی‌تلیوم راه هوایی نمونه‌های کنترل، این مولکول با شدت بیان شده‌است و این بیان در سطح لومینال قوی‌تر است(پیکان) (A). این پروتئین بسیار بسیار ضعیف در لبه بالایی یا کنار لومینال اپی‌تلیوم دیواره راه هوایی جانبازان شیمیایی بیان می‌شود که در مقایسه با نمونه کنترل در حد منفی است.(B) به ضخامت اپیتلیوم و هیپرتروفی گابلت سل‌ها در نمونه‌های شیمیایی و کنترل توجه نمایید، ضخامت لایه اپیتلیوم نمونه شیمیایی نسبت به نمونه کنترل حدودا دوبرابر شده است. BM= غشاء پایه.

بحث

در این مطالعه میزان بیان مولکول HO را در بیوپسی دیواره راه هوایی جانبازان شیمیایی که با استنشاق گاز خردل مجروح شدند با آزمایشات ایمونوهیستوشیمی مورد بررسی قرار گرفتند. HO یکی از آنتی اکسیدان‌های فعال است که می‌تواند با افزایش سطح گلوتاسیون با استرس‌های اکسیداتیوی مقابله‌کرده و میزان سمیت آن‌ها را کاهش دهد. مولکول هم‌اکسیژناز بصورت طبیعی در دیواره راه هوایی انسان‌های سالم وجوددارد و این حضور در آزمایشات ایمونوهیستوشیمی برش‌های بیوپسی نمونه‌های کنترل، کاملا مشهود است(شکل ۱، A)، لذا در مقابله با عوامل تولیدکننده رادیکال‌های آزاد در هوای تنفسی موجبات تعادل سیستم اکسیدانت/آنتی اکسیدانت را فراهم می‌کند. میزان بیان این مولکول در نمونه‌های مربوط به جانبازان شیمیایی کاملا متفاوت با نمونه‌های کنترل است به‌صورتی که به جرات می‌توان گفت که پاسخ به آنتی‌بادی HO در آزمایش ایمونوهیستوشیمی منفی است و این به این معنی است که این ابزار قدرتمند برای مقابله با سمیت ناشی از رادیکال‌های آزاد وجود ندارد.

Maeshima نشان‌داد بیان HO1 توسط ترکیباتی غیر از هم نظیر فلزات سنگین، اندوتوکسین‌ها، اشعه ماورای بنفش و پراکسید هیدروژن که یکی از مهمترین اکسیدانت‌هاست، تحریک می‌شود. جنبه عمومی این القاکننده‌ها توانایی آن‌ها در تولید ROS است.(۲۳) SM نیز می‌تواند همانند این ترکیبات سبب تولید ROS شود که این امر ناشی از کاهش گلوتاتیون سلولی (GSH) است.(۲۴) در این وضعیت HO1 می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان جبرانی در پاسخ به کاهش GSH فعال شود و به عنوان ترکیب محافظتی سلول علیه استرس اکسیداتیوها عمل کند.(۲۶و۲۵) در واقع HO1 نقش حفاظتی را در مدل‌های آزمایشگاهی و حیوانی در آسیب بافتی القاشده توسط اکسیدانت‌ها اعمال می‌کند.(۲۹-۲۷) HO1 در حفاظت سلولی بسیاری از بیماری‌های ریه نظیر COPD، آسم و سندرم زجرتنفسی حاد(ARDS) نقش دارد.(۳۰) بر این اساس HO1 ممکن است در مهار تغییر ساختاری ریه که در بیماران مبتلا به آسم دیده می‌شود، نقش مهمی داشته باشد.(۳۱)

مطالعه دیگری نیز نشان می‌دهد که فعالیت افزایش‌یافته HO1 در سلول‌های اپی‌تلیال ریه، سلول‌ها را از آسیب هایپراکسیک محافظت می‌کند. انتقال HO1 از طریق وکتورآدنوویروسی به سلول‌های ریه، آسیب ریوی القاشده با هایپراکسی را در Rat کاهش می‌دهد.(۳۰) به‌طور مشابهی افزایش سطح بیان HO1 mRNA در اپی‌تلیوم برونشیول‌ها از طریق وکتور آدنوویروسی نشان می‌دهد

www.SID.ir

Archive of SID

Rat های مذکور که در معرض هایپراکسی قرار گرفته‌اند، علیه آسیب محافظت می‌شوند.(۲۹) HO1 نقش مهمی در حفاظت ریه علیه آسیب‌های وارده توسط اکسیدانت‌ها در بیماران ARDS دارد. بررسی مایع BAL و بافت ریه این بیماران افزایش بیان HO1 را نشان‌داد.(۳۱) به‌علاوه آسیب ریوی القاشده با ایسکمی در جوندگان، تحریک‌کننده HO1 می‌باشد که سبب اثرات حفاظتی می‌شود و نشان‌دهنده تلاش بدن برای بازگشت اکسیژن به جریان خون‌است.(۳۳و۳۲) هم‌چنین بیان HO-1 در ماکروفاژهای آلوئولی دریافت‌کننده‌های پیوند ریه که از بیماری BO رنج می‌برند، افزایش می‌یابد. در حقیقت HO1 در حفاظت آسیب‌های ریه نقش مهمی‌دارد.(۳۴)

اپی‌تلیوم راه هوایی اولین سد فیزیولوژی بدن در مقابل عوامل آسیب‌رسان موجود در هوا نظیر آلرژن‌ها، مواد صنعتی، گازهای شیمیایی و عوامل عفونی است. مژک‌ها و موکوس پوشاننده سطح راه‌های هوایی، به مقابله با این ترکیبات می‌پردازند. هنگامی که سلول‌های اپی‌تلیال در مواجه با این ذرات قرار می‌گیرند، سیتوکین‌های التهابی آزاد می‌کنند و ترشح موکوس و تولید گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر[1] را موجب می‌شوند. این ترکیبات تولید شده به وسیله سلول‌های اپی‌تلیال می‌توانند نقش مهمی در مهاجرت سلول‌های التهابی به راه‌های هوایی داشته باشند. ترکیبات آزادشده از سلول‌های اپی‌تلیال سبب نفوذ لنفوسیت‌های B و T، نوتروفیل‌ها، بازوفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها به سمت راه‌های هوایی می‌شود. تجمع نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها، باعث آزادسازی مقدار وسیعی از گونه‌های اکسیژن واکنشگر و گونه های نیتروژن واکنش‌گر[2] می‌شود تا با عوامل عفونی نظیر باکتری و ویروس مبارزه‌کنند.(۳۵) سولفور موستارد (گاز خردل) عامل آلکیله‌کننده قوی و یکی از آسیب‌رسان‌های اکسیداتیو می‌باشد که با RNA، DNA، پروتئین و لیپیدهای غشا واکنش‌داده و آن‌ها را آلکیله می‌کند.(۳) به نظر می‌رسد که آسیب به هسته و DNA مهمترین مکانیسم آسیب‌رسانی این ماده باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها در فرآیندهای سم‌زدائی مختلف سلول‌ها در مقابله با رادیکال‌های آزاد شرکت می‌کنند.(۳۶)

با توجه به این‌که استرس‌های اکسیداتیو از عوامل ایجاد بیماری‌های آلرژی راه‌هوایی می‌باشند و در بیماری آسم کاهش توانایی آنزیم در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، ممکن است دلیلی بر پیشرفت و تداوم بیماری می‌باشد.(۳۷) پس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش این آنزیم ممکن است دلیلی برای پیشرفت و تداوم بیماری COPD در جانبازان شیمیایی باشد. این پروتئین با شدت بیشتری در اپیتلیوم راه هوایی بیان می‌شوند که نشانگر حضور پایه آن‌ها در نمونه‌های کنترل می‌باشد تا بتوانند نسبت به جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد اکسیژن اقدام کنند و از صدمهٔ آن‌ها به DNA جلوگیری می‌کنند. در این پروژه بیان مولکول HO درجانبازان شیمیایی کاهش قابل ملاحظه‌ای نسبت به نمونه‌ی کنترل نشان داده‌اند که دلیل محکمی بر ناتوانی فرد در مقابله با آسیب‌های اکسیداتیوی و در نتیجه تداوم بیماری می‌باشد. نتایج این مطالعه با عدم‌تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها که در مصدومین شیمیایی دیده می‌شود، مطابقت‌دارد.(۱۰) قانعی و همکاران نشان دادند داروی N-استیل‌سیستئین که یک داروی از بین برنده موکوس با فعالیت آنتی‌اکسیدانی است، علائم بالینی مصدومین شیمیایی را کاهش می‌دهد و باعث بهبود تست عملکردی ریوی شده‌است.(۷)

نتیجه‌گیری

براین اساس نتایج حاصله با این حقیقت که مصدومین شیمیایی دچار عدم‌تعادل اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها به دلیل کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها هستند، برای رفع این مشکل بایستی سطح آنتی‌اکسیدانت‌های موثر در این پروسه را در بدن بیماران افزایش داد، لذا تجویز داروها و مواد خوراکی حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند باعث بهبودی بیماری گردد. فهم مولکولی و سلولی مراحل ایجاد آسیب می‌تواند ما را در جهت یافتن پروتکل های درمانی کاهش اثرات مخرب استرس‌های اکسیداتیوی یاری دهد.

[1] ROS= Reactive oxygen species
[2] RNS= Reactive nitrogen species

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1. Aghanouri R, Ghanei M, Aslani J, Keivani-Amine H, Rastegar F, Karkhane A, 2004. Fibrogenic cytokine levels in bronchoalveolar lavage aspirates 15 years after exposure to sulfur mustard.Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 287(6): p. L1160-4.
2. Khateri, S., et al, 2003. Incidence of lung, eye, and skin lesions as late complications in 34,000 Iranians with wartime exposure to mustard agent. J Occup Environ Med, 45(11): p. 1136-43.
3. Renshaw, B., 1947, Observation on the role of water in the susceptibility of human skin to injury by vesicant vapors. J. Invest. Dermatol,:9 p. 75–85.
4. Rosenthal DS, Simbulan-Rosenthal CM, Iyer S, Spoonde A, Smith W, Ray R, Smulson ME.., 1998. Sulfur mustard induces markers of terminal differentiation and apoptosis in keratinocytes via a Ca2+-calmodulin and caspase-dependent pathway. J. Invest. Dermatol, 111: p. 64-71.
5. Ghanei, M., et al, 2003. Public Health Status of the Civil Population of Sardasht 15 Years Following Large−Scale Wartime Exposure to Sulfur Mustard. J Burns &Surg Wound Care2.
6. Ghanei, M., et al., 2006. Tracheobronchomalacia and air trapping following mustard gas exposure. Am J Respir Crit Care Med, 173: p. 304-309.
7. Ghanei, M., M. Shohrati, et al, 2008. "N-Acetylcysteine Improves the Clinical Conditions of Mustard Gas-Exposed Patients with Normal Pulmonary Function Test." Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology 103(5): 428-432.
8. Beheshti J, Mark EJ, Akbaei HM, Aslani J, Ghanei M, 2006. Mustard lung secrets: Long term clinicopathological study following mustard gas exposure. Pathol Res Pract: 202: 739-744.
9. Korkmaz A, H. Yaren, T. Topal, and S.Oter, "Molecular targets against mustard toxicity: implication of cell surface receptors, peroxynitrite production, and PARP activation," Archives of Toxicology, vol. 80, no. 10, pp. 662–670, 2006.
10. Jafari, M, et al, 2007. "Dose- and time-dependent effects of sulfur mustard on antioxidant system in liver and brain of rat." Toxicology 231(1): 30-9.Jafari, 2007
11. Paromov, V., Z. Suntres, et al. 2007. "Sulfur mustard toxicity following dermal exposure: role of oxidative stress, and antioxidant therapy." J Burns Wounds 7: e7.
12. Greenberg S D and Atmar R L, Chronic airway disease, the infection conection. Transactivation of the American clinical and climatological association, 1999. VOL. 110.
13. Drost EM, Skwarski KM, Sauleda J, Soler N, Roca J, Agusti A, MacNee W, 2005. Oxidative stress and airway inflammation in severe exacerbations of COPD, Thorax, 60(4):293-300.Ghanei 2004,
14. Suhua Han, ,3Luis A. Espinoza, 3Hongling Liao, Hamid Boulares & Mark E. Smulson Protection by antioxidants against toxicity and apoptosis induced by the sulphur mustard analog 2-chloroethylethyl sulphide (CEES) in Jurkat T cells and normal human lymphocytes. British Journal of Pharmacology (2004) 141, 795–802
15. Wohaieb SA, Godin DV.alteration in freee radical tissue defense mechanism in streptozotosin induced diabetes in rat .Effests of insulin treatment.Diabetes.J.free radical Bio med.1 987,360; 10-14.
16. Morse and Choi, 2002 D. Morse and A.M. Choi, Heme oxygenase-1: the "emerging molecule" has arrived, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 27 (2002), pp. 8–16.
17. Maines MD. The heme oxygenase system: update 2005.Antioxid Redox Signal. 2005 Nov-Dec;7(11-12):1761-6.
18. Kikuchi G, Yoshida T, Noguchi M. Heme oxygenase and heme degradation. Biochem Biophys Res Commun. 2005 Dec 9; 338(1):558-67. Epub 2005 Aug 15.
19. Hayashi K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Isshiki K, Kikkawa R. Enhancement of glomerular heme oxygenase-1 expression in diabetic rats.Diabetes Res Clin Pract. 2001 May; 52(2):85-96.
20. Kvam E, Tyrrell RM. Artificial background and induced levels of oxidative base damage in DNA from human cells. Carcinogenesis. 1997 Nov; 18(11):2281-3.
21. Bach FH. Heme oxygenase-1 and transplantation tolerance.Hum Immunol. 2006 Jun; 67(6):430-2. Epub 2006 Apr 24.
22. Chen CL, Liu IH, Fliesler SG, Han X, Huang SS, 2007. Cholestrol suppressor cellular TGF- beta responsiveness: Implications in atherogenesis. J Cell Sci, 120(pt 20): 3509-21.
23. Maeshima, H., M. Sato, et al, 1996. "Participation of altered upstream stimulatory factor in the induction of rat heme oxygenase-1 by cadmium." Nucleic Acids Res 24(15): 2959-65.
24. Paromov, V., Z. Suntres, et al. 2007. "Sulfur mustard toxicity following dermal exposure: role of oxidative stress, and antioxidant therapy." J Burns Wounds 7: e7.
25. Lautier, D., P. Luscher, et al, 1992. "Endogenous glutathione levels modulate both constitutive and UVA radiation/hydrogen peroxide inducible expression of the human heme oxygenase gene." Carcinogenesis 13(2): 227-32.
26. Horikawa, S., R. Yoneya, et al, 2002. "Prior induction of heme oxygenase-1 with glutathione depletor ameliorates the renal ischemia and reperfusion injury in the rat." FEBS Lett 510(3): 221-4.
27. Hancock, W. W., R. Buelow, et a, 1998. "Antibody-induced transplant arteriosclerosis is

www.SID.ir

Archive of SID

prevented by graft expression of anti-oxidant and anti-apoptotic genes." Nat Med 4(12): 1392-6.
28. 28-Soares MP, Lin Y, Anrather J, Csizmadia E, Takigami K, Sato K, Grey ST, Colvin RB, Choi AM, Poss KD, Bach FH, 1998. "Expression of heme oxygenase-1 can determine cardiac xenograft survival." Nat Med 4(9): 1073-7.
29. Otterbein, L. E., L. L. Mantell, et al. 1999. "Carbon monoxide provides protection against hyperoxic lung injury." Am J Physiol 276(4 Pt 1): L688-94.
30. Fredenburgh, L. E., M. A. Perrella, et al, 2007. The role of heme oxygenase-1 in pulmonary disease. Am J Respir Cell Mol Biol 36(2): 158-65.
31. Lim, S., D. Groneberg, et al, 2000. "Expression of heme oxygenase isoenzymes 1 and 2 in normal and asthmatic airways: effect of inhaled corticosteroids." Am J Respir Crit Care Med 162(5): 1912-8.
32. Mumby, S., R. L. Upton, et al, 2004. "Lung heme oxygenase-1 is elevated in acute respiratory distress syndrome." Crit Care Med 32(5): 1130-5.
33. Fujita, T., K. Toda, et al, 2001. "Paradoxical rescue from ischemic lung injury by inhaled carbon monoxide driven by derepression of fibrinolysis." Nat Med 7(5): 598-604.
34. Morse, D. and A. M. Choi, 2005. "Heme oxygenase-1: from bench to bedside." Am J Respir Crit Care Med 172(6): 660-70.
35. Bonnell, M. R., G. A. Visner, et al. (2004). "Heme-oxygenase-1 expression correlates with severity of acute cellular rejection in lung transplantation." J Am Coll Surg 198(6): 945-52.
36. Martin LD, Krunkosky TM, Voynow JA, Adler KB. The role of reactive oxygen and nitrogen species in airway epithelial gene expression. Environ Health Perspect. 1998 Oct; 106 Suppl 5:1197-203.
37. Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, Hayes JD, Di Ilio C, Ketterer B, Listowsky I, Morgenstern R, Muramatsu M, Pearson WR, et al. 1992. Nomenclature for human glutathione transferases. Biochem] 282:305-306.
38. Vuokko L. Kinnula and James D. Crapo, 2003; Superoxide Dismutases in the Lung and Human Lung Diseases, Am J Respir Crit Care Med Vol 167. pp 1600–1619.

www.SID.ir