

## بررسی سطح کموکاین (CXCL12) SDF-1 در سرم جانبازان شیمیایی با مشکلات ریوی

فاطمه ایوبی<sup>۱</sup>، طوبی غضنفری<sup>۲\*</sup>، نیره عسکری<sup>۳</sup>، محمد مهدی نقی زاده<sup>۴</sup>، محمدرضا سروش<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، <sup>۲</sup> استاد ایمنولوژی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ های ایمنی، دانشگاه شاهد، <sup>۳</sup> استادیار فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان <sup>۴</sup> عضو هیأت علمی گروه آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا <sup>۵</sup> پزشک عمومی، مرکز تحقیقات مهندسی و علوم پزشکی جانبازان

### چکیده

مقدمه: در طول جنگ تحمیلی عراق علیه ایران، بارها از گاز خردل (سولفور مستارد) به عنوان سلاح شیمیایی علیه ایرانیان استفاده گردید. با گذشت سال‌های طولانی از مواجهه با گاز خردل افراد مواجهه یافته هنوز از عوارض دیررس مواجهه شامل مشکلات چشمی، پوستی و ریوی رنج می‌برند.

SDF-1 $\alpha$  (Stromal-Derived Factor 1) یا CXCL12، کموکاینی است که در مطالعات متعدد، نقش مهم آن در فرآیند رهاشدن سلول‌های پیش‌ساز و بنیادی از مغز استخوان به خون محیطی پس از ایجاد آسیب یا التهاب در بدن، مورد تأیید قرار گرفته است.

هدف: هدف از این مطالعه ارزیابی میزان SDF-1 در نمونه‌های سرم جانبازان شیمیایی سال‌ها پس از مواجهه با گاز خردل می‌باشد.

مواد و روش‌ها: مطالعه بر روی ۱۷۴ نفر جانباز شیمیایی گاز خردل و ۳۹ نفر از افراد غیرشیمیایی به عنوان گروه کنترل انجام گردید. ارزیابی بالینی توسط متخصصین انجام گردید، عملکرد ریه با استفاده از اسپیرومتری انجام و جانبازان شرکت کننده براساس طبقه بندی کمیسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران به سه گروه با آسیب ریوی خفیف، متوسط و شدید تقسیم گردیدند. میزان SDF-1 در سرم به روش ساندویچ الایزا اندازه گیری گردید.

یافته‌ها: سطح سرمی کموکاین SDF-1 در جانبازان شیمیایی نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری یافته بود (p=۰/۰۴۶). میزان کموکاین SDF-1 در سرم افراد مواجهه یافته با آسیب شدید ریوی معنادار بود (p=۰/۰۵۴). این کاهش در دو گروه با آسیب ریوی خفیف و متوسط معنادار نبود.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به کاهش معنادار سطح سرمی کموکاین SDF-1 در افراد مواجهه یافته با سولفورمستارد نسبت به افراد گروه کنترل غیر مواجهه، همچنین با توجه به معنی دار بودن این کاهش در افراد دارای آسیب های ریوی شدید می‌توان نتیجه گرفت کاهش میزان این کموکاین می‌تواند یکی از عوامل موثر در عدم ترمیم ضایعات دراز مدت سولفورمستارد باشد.

کلید واژه: کموکاین SDF-1 (CXCL12)، گاز خردل، جانبازان شیمیایی، مشکلات ریوی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۷

**مقدمه :**

کموکاین‌ها در فراخوانی لکوسیت‌ها و سلول‌های بنیادی به بافت‌های ملتهب و آسیب دیده و نقش آنها در ترمیم این بافت‌ها مورد توجه محققین قرار گرفته است (۱۹).

فاکتور مشتق شده از سلول‌های استرومایی (Stromal cell-Derived Factor 1 یا CXCL12) که به عنوان فاکتور محرک رشد سلول پیش ساز سلول B نیز شناخته شده، یکی از اعضای زیرخانواده‌ی کموکاین‌های C-X-C است که اولین بار از سلول‌های استرومایی مغز استخوان جداسازی شد (۲۰ و ۲۱). SDF-1 در اندام‌های متعددی از بدن شامل قلب، کبد، مغز، کلیه، ماهیچه اسکلتی، اندام‌های لنفاوی و... بیان می‌شود. سلول‌های اندوتلیال عروقی، فیبروبلاست‌های استروما و استئوبلاست‌ها منابع سلولی اصلی مولد SDF-1 در این اندام‌ها هستند (۲۲-۲۳). مشخص شده که تولید SDF-1 $\alpha$  در بافت‌های آسیب‌دیده، عامل مهمی در تسهیل ایجاد یک ریزمحیط لازم برای فراخوانی و لانه‌گزینی سلول‌های بنیادی بافتی در گردش است، که در نهایت موجب ترمیم بافت و بازسازی اندام هدف می‌شود (۲۴ و ۲۵). در مطالعات متعدد، نقش مهم کموکاین SDF-1 و گیرنده آن در فرآیند رهاشدن سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان و سایر سلول‌های پیش‌ساز به خون محیطی، در نتیجه‌ی افزایش موضعی سطح SDF-1 در اندام آسیب‌دیده یا ملتهب، مورد تایید قرار گرفته است (۲۶-۲۹). از آنجایی که SDF-1 به عنوان فاکتور مؤثر در فراخوانی سلول‌های بنیادی و لکوسیت‌ها به بافت‌های آسیب دیده، به ویژه بافت‌های دچار ایسکمی، شناخته شده است. تعداد زیادی از مطالعات پیش‌کلینیکی بر روی استفاده از این کموکاین به عنوان هدف درمانی، به منظور القای بازسازی و ترمیم بافت‌های آسیب دیده مختلف، متمرکز شده‌اند (۳۰).

باتوجه به عوارض دیررس مواجهه با گاز خردل که در بافت‌های ریه، چشم، پوست و... مصدومین شیمیایی وجود دارد و اختلالاتی که در سیستم ایمنی و فرآیند ترمیم بافت در این افراد مشاهده شده و نیز اهمیت کموکاین SDF-1 $\alpha$  در فراخوانی سلول‌های بنیادی و لکوسیت‌ها و نقش مهم آن در ترمیم بافت‌های آسیب دیده، این مطالعه با هدف ارزیابی سطح سرمی SDF-1

سولفورموستارد که با عنوان گاز خردل نیز شناخته شده است به عنوان سلاح شیمیایی طی جنگ جهانی اول و نیز توسط ارتش عراق علیه ایرانیان در جنگ ایران و عراق در دهه ی ۱۹۸۰ به کار گرفته شد (۱-۲). سولفورموستارد از طریق استنشاق، پوست، سطح قدامی چشم، ریه‌ها و دستگاه گوارش جذب می‌شود. عوارض مواجهه با این ماده شیمیایی در اندام‌های مختلف (چشم، ریه، پوست، سیستم عصبی، سیستم گوارش و سیستم ایمنی) بروز می‌نماید (۳ و ۴). عوارض زودرس در همان هفته اول و عوارض دیررس ۱۰-۱۵ سال بعد وحتى در سال‌های طولانی تر پس از ضایعه اولیه خود را نشان می‌دهند (۵ و ۶). بسیاری از مصدومین شیمیایی کشورمان از عوارض دیررس رنج می‌برند (۳). مشکلات ریوی در این افراد، اصلی‌ترین عامل ناتوانی و مرگ و میر در دراز مدت هستند (۷). مشکلات تأخیری در چشم، ریه و پوست افراد مواجهه یافته می‌تواند به دلیل مکانیسم‌های ایمنی و التهابی باشد (۸-۱۰). گزارشات موجود نشان می‌دهد که تماس با سولفورموستارد، می‌تواند باعث اختلال در عملکرد هر دو سیستم ایمنی هومورال و سلولی شود (۱۱). به دلیل ناکافی بودن آگاهی از پروسه‌های مولکولی پاتوفیزیولوژیک دخیل در آسیب سولفورموستارد، در حال حاضر درمان موثری برای مجروحان شیمیایی وجود ندارد (۱۲).

کموکاین‌ها، سایتوکاین‌های جاذب شیمیایی پیش‌التهابی کوچک با وزن مولکولی پایین (۸-۱۴ کیلودالتون) هستند که به گیرنده‌هایشان که با پروتئین G جفت شده‌اند متصل شده و پاسخ‌های سلولی را القا می‌کنند. این پروتئین‌های محلول تنظیم‌کننده‌های اصلی در اتصال و ترافیک سلولی می‌باشند و معمولا در هدایت مهاجرت سلول‌ها یا کمو تاکسی نقش دارند (۱۳-۱۵). بر اساس موقعیت قرارگیری دو دنباله سیستئینی حفاظت شده در انتهای آمینی، کموکاین‌ها چهار گروه کموکاین‌های CCXC $\alpha$ C و CX3C دسته بندی می‌شوند (۱۶ و ۱۷).

کموکاین‌ها و گیرنده‌هایشان در التهاب، عفونت، آسیب بافت، آلرژی، بیماری‌های قلبی-عروقی و تومورهای بدخیم نقش دارند (۱۸). در سال‌های اخیر، توانایی

### معاینات و بررسی های بالینی

افراد مورد بررسی در هر دو گروه کنترل و مواجهه یافته، پرسشنامه دموگرافیک که شامل سن، شاخص توده بدنی، وضعیت تاهل و سیگار کشیدن بود را تکمیل نمودند. سپس معاینات کامل ریوی به ترتیب توسط متخصص ریه و فوق تخصص ریه به صورت مصاحبه و معاینه دقیق و کامل انجام شد. اسپرومتری بر اساس کرایتریای American Thoracic Society (۱۹۹۵) با استفاده از دستگاه اسپرومتر Chest 801 تحت نظارت دقیق گروهی از پرستاران کارآموده انجام گردید.

### خون گیری و تهیه سرم

از هر یک از افراد ۲ سی سی نمونه خون محیطی در شرایط استریل گرفته و به لوله فاقد ماده ضد انعقاد منتقل شد. لوله های حاوی خون لخته در دور ۱۵۰۰ در دقیقه (۱۵۰۰rpm) بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم از خون جدا گردید. نمونه های سرم تهیه شده در لوله های کوچک به حجم ۱۰۰ تقسیم شده و در آزمایشگاه ایمونولوژی دانشکده پزشکی شاهد در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

### روش سنجش سایتوکاین

میزان SDF-1 در نمونه های سرمی با استفاده از کیت الایزا (شرکت R&D) به روش ساندویچ الایزا، بر اساس پروتکل کیت، مورد بررسی قرار گرفت. به طور خلاصه، آنتی بادی اول (Capture Antibody) پس از حل شدن در PBS، در چاهک های پلیت ۹۶ خانه ریخته و طبق پروتکل به مدت یک شب در دمای اتاق انکوبه شد. در مرحله بعد با ۱% BSA بلاک گردید و پس از آن ۷ رقت از استاندارد کیت به همراه نمونه ها افزوده شد. بعد از آن، آنتی بادی دوم (Detection Antibody) در چاهک ها ریخته شد. سپس آنزیم و پس از آن سوبسترا اضافه گردید و در مرحله آخر، واکنش با افزودن محلول متوقف کننده (H2SO4 2N) متوقف و در نهایت سطح سرمی کموکاین SDF-1 توسط دستگاه خواننده الایزا خوانده شد. در هر مرحله پلیت ۳ بار (هر بار ۴۰۰ ماکرولیتر) با محلول Tween 20 0.05% شستشو داده شد.

در مصدومین شیمیایی مواجهه یافته با گاز خردل در مقایسه با افراد مواجهه نیافته انجام شد.

### مواد و روش ها

پروژه حاضر در کمیته اخلاق پژوهشکده مهندسی و علوم پزشکی جانبازان و شورای پژوهشی دانشگاه شاهد تصویب گردید. رضایت نامه کتبی از کلیه افراد شرکت کننده در این مطالعه گرفته شد.

### جامعه آماری و نمونه مورد مطالعه

جامعه آماری در این مطالعه عبارت بود از ۱۷۴ نفر از مصدومین شیمیایی جنگ تحمیلی که دارای مشکلات جدی ریوی بودند که در مهر ماه ۱۳۸۷ از استانهای مختلف به همایش پایش سلامت جانبازان در اصفهان دعوت گردیدند. پس از اخذ رضایت نامه کتبی آگاهانه از افراد انتخاب شده، لیست مشارکت کنندگان نهایی گردید. معیارهای ورود به مطالعه برای گروه مورد: جنسیت مرد، سن ۳۰ تا ۶۰ سال، سابقه اثبات شده مواجهه با گاز خردل در طی بمباران شیمیایی مناطق مختلف کشور طبق پرونده های پزشکی موجود در بنیاد جانبازان، طبق نتایج اسپرومتری انجام شده بیمار در یکی از گروه های دارای ضایعات خفیف یا متوسط یا شدید قرار گرفته باشد.

معیارهای ورود به مطالعه برای گروه کنترل: جنسیت مرد، سن ۳۰ تا ۶۰ سال، عدم ابتلا به بیماری خاص بر اساس بررسی های انجام شده. این گروه شامل ۳۹ نفر از افراد سالم از استان های مختلف که یا جزء همراهم بیمار بودند و یا در تیم اجرایی همایش حضور داشتند که از نظر سن، جنس، شاخص توده بدنی، وضعیت تاهل و سیگار کشیدن با گروه مورد مشابه بودند و تفاوت اصلی آنها در مواجهه با گاز خردل بود.

معیار های خروج از مطالعه: عدم همکاری افراد، کم بودن حجم نمونه های سرمی.

پس از بررسی بیماران و افراد شاهد سالم بر اساس معیارهای ورود و خروج از مطالعه، ۱۲۷ نفر از این مصدومان با عوارض ریوی شدید، ۲۳ نفر دارای عوارض ریوی خفیف، ۲۴ نفر دارای عوارض ریوی متوسط و ۳۹ نفر از افراد غیر شیمیایی به عنوان گروه کنترل، وارد گروه مطالعه شدند.

## آنالیز آماری

داده‌ها در نرم افزار SPSS وارد شد و میانگین مقدار SDF-1 در دو گروه مواجهه یافته و کنترل سالم، همچنین در گروه‌های جانباز با سطوح مختلف مشکلات ریوی (شدید، متوسط و خفیف) با استفاده از تکنیک آماری من-ویتنی مقایسه گردید. همچنین ارتباط بین سطح سرمی SDF-1 و پارامترهای ریوی به روش من-ویتنی در گروه جانبازان بررسی گردید. مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

## نتایج و یافته‌ها

این مطالعه بر روی ۱۷۴ نفر از مصدومین شیمیایی دارای مشکلات جدی ریوی که در مهرماه ۱۳۸۷ در همایش پایش سلامت جانبازان شرکت کرده بودند و بر اساس

معیارهای ورود و خروج از مطالعه انجام شد. جانبازان شیمیایی ریوی مواجهه یافته با سولفورموستارد بر اساس طبقه بندی کمیسیون پزشکی بنیاد شهید و امور ایثارگران در قالب سه گروه جانباز شیمیایی، خفیف ۲۳ نفر، متوسط ۲۴ نفر و شدید ۱۲۷ نفر، در کنار ۳۹ نفر از افراد سالم مواجهه نیافته به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین غلظت سرمی کموکاین SDF-1 در گروه مواجهه یافته ۳۹. ۲۹۵. و در گروه شاهد ۲۳. ۳۳۹. می باشد. نتایج نشان داد که میانگین سطح سرمی کموکاین SDF-1 در جانبازان شیمیایی نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری یافته است (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: سطح سرمی کموکاین SDF-1 در گروه مواجهه یافته و شاهد

p-value	سطح سرمی کموکاین SDF-1 (pg/ml)				ارزیابی ریوی
	میان	انحراف معیار	میانگین	تعداد	
۰.۰۴۶	۳۰۸.۸۰	۱۳۷.۰۸	۳۳۹.۲۳	۳۹	گروه شاهد
	۲۶۷.۲۲	۱۶۶.۳۲	۲۹۵.۳۹	۱۷۴	مصدومین شیمیایی

کموکاین SDF-1 نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری یافته است. در دو گروه با آسیب ریوی خفیف و متوسط این کاهش از نظر آماری معنادار نبوده است.

همانطور که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، از میان سه گروه مختلف افراد مواجهه یافته با سولفورموستارد، فقط در گروه مبتلا به آسیب شدید ریوی سطح سرمی

جدول شماره ۲: بررسی ارتباط غلظت سرمی کموکاین SDF-1 بین گروه‌های مختلف مواجهه یافته و گروه شاهد

سطح سرمی کموکاین SDF-1 (pg/ml)							ارزیابی ریوی
p-value3	p-value 2	p-value 1	میان	انحراف معیار	میانگین	تعداد	
			۳۰۸.۸۰	۱۳۷.۰۸	۳۳۹.۲۳	۳۹	کنترل سالم
		۱۳۱.۰	۲۴۸.۵	۱۴۰.۷۳	۲۸۷.۵۱	۲۳	مصدومین ریوی خفیف
	۹۰۷.۰	۲۲۴.۰	۲۶۵.۶	۱۵۵.۲۵	۲۹۱.۹	۲۴	مصدومین ریوی متوسط
۹۹۶.۰	۹۰۵.۰	۰۵۴.۰	۲۶۹.۵۹	۵۱.۱۷۳	۲۹۷.۷	۱۲۷	مصدومین ریوی شدید

p-value 3 مقایسه با گروه متوسط Mann-Whitney محاسبه شده.

p-value 1 مقایسه با گروه کنترل  
p-value 2 مقایسه با گروه خفیف

**بحث و نتیجه گیری**

سولفورمستارد به عنوان یک عامل آلکیل کننده ی تاول زا با ویژگی های سایتو توکسیک و موتاژنیک شناخته شده است که دارای عوارض زودرس و دیررس می باشد. مصدومین شیمیایی کشورمان از مشکلات دیررس مواجهه با سولفورمستارد در بافت های مختلف به ویژه ریه، چشم و پوست و اختلالات ترمیمی در این بافت ها رنج می برند (۳۱-۳۲). مطالعات نشان می دهد که شایعترین عضو گرفتار در مصدومین شیمیایی در دراز مدت ریه است (۳۳).

در مطالعات متعدد، نقش مهم کموکاین SDF-1 (CXCL12) در فراخوانی سلول های بنیادی و پیش ساز رها شده به محل آسیب، به منظور ترمیم و بازسازی بافت مورد بررسی قرار گرفته است. شواهد زیادی نشان می دهد که در طی آسیب اندام یا بافت، سلول های بنیادی CXCR4<sup>+</sup> از موضع بافتی خود (برای مثال مغز استخوان) به خون محیطی وارد شده و به سمت اندام آسیب دیده برای ترمیم و بازسازی مهاجرت می کنند. این مکانیسم برای انفارکتوس قلب، آسیب کبد، آسیب کلیه، آسیب و فیبروز ریه، شکستگی های استخوان و... پیشنهاد شده است. یافته های این مطالعات نشان می دهد که کموکاین SDF-1 و گیرنده آن CXCR (محور CXCR4 / SDF-1) نقش مهمی در پروسه های متعدد مرتبط با تکامل، بازسازی و ترمیم و نیز در پیشرفت بدخیمی ها دارد. بنابراین مطالعات متعددی در جهت بررسی مکانیسم های تنظیم محور SDF-1 / CXCR4 برای یافتن کاربردی عملکردی برای بهبود آسیب های بافت های مختلف در سطح کلینیکی، صورت گرفته است (۲۲-۲۹).

در بررسی منابع موجود، تا کنون مطالعه ای در رابطه با اثر زودرس و دیررس سولفورمستارد بر سطح سرمی کموکاین SDF-1، گزارش نشده است.

در مطالعه حاضر سطح سرمی کموکاین SDF-1 مصدومین شیمیایی مواجهه یافته با سولفورمستارد، در مقایسه با افراد شاهد بدون مواجهه مورد بررسی قرار گرفته است. در این مطالعه مجموعاً ۲۱۳ از افراد مواجهه یافته و مواجهه نیافته در دو گروه شاهد و شیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند و سطح سرمی SDF-1 با روش ساندویچ الایزا اندازه گیری شد. نتایج این مطالعه نشان

داد که میانگین سطح سرمی کموکاین SDF-1 در جانبازان شیمیایی نسبت به گروه کنترل کاهش معناداری یافته است. همچنین بررسی های آماری نشان داد که سطح سرمی کموکاین SDF-1 در گروه مصدومین شیمیایی با آسیب ریوی شدید، کاهش معناداری داشته ولی در دو گروه دیگر، این کاهش معنادار نبوده است.

در سال ۲۰۰۹ غضنفری و همکاران، سطح سرمی ۴ سایتوکاین التهابی شامل: MCP-1/CCL2, CXCL8/IL-8 RANTES/CCL5 در مصدومین شیمیایی FRCTALKINE/CX3CL1 در سال ۲۰ پس از مواجهه با سولفورمستارد را در یک مطالعه تاریخی کوهورت بررسی کردند. ۳۲۷ جانبازان شیمیایی به عنوان گروه مورد و ۱۲۸ نفر افراد سالم به عنوان گروه کنترل مورد ارزیابی قرار گرفتند. سطح سرمی این سایتوکاین ها با روش ساندویچ الایزا اندازه گیری گردید. افزایش سطح سرمی MCP-1/CCL2 بیانگر نقش ضد التهابی و کاهش میزان RANTES/CCL5 و IL-8/CXCL8 نشان دهنده ی پاتوفیزیولوژی و مکانیسم های متفاوت دخیل در بروز اثرات طولانی مدت سولفورمستارد بر روی جانبازان شیمیایی می باشد (۳۴). نقش کموکاین های SDF-1 و CXCL8 در آنژیوژنز دخیل در پاسخ های التهابی و ترمیمی مورد تأیید قرار گرفته است. از طرف دیگر کموکاین SDF-1 با افزایش فراخوانی لکوسیت ها می تواند در القای واکنش های التهابی مؤثر باشد. شاید بتوان چنین استنباط کرد که کاهش این کموکاین ها مکانیسم دفاعی بدن به منظور کاهش التهاب بافتی این افراد می باشد.

در مطالعه ای که یارایی در سال ۲۰۰۹ انجام داد، سطح سرمی سایتوکاین های پیش التهابی IL-1, IL-1, TNF, IL-1Ra در مصدومین شیمیایی، در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری نشان داد (۳۵).

در مطالعه قاسمی و همکاران در سال ۲۰۰۹ سطح سرمی IL-1, TNF, IL-6 به طور قابل توجهی در گروه جانبازان شیمیایی نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود (۳۶).

Eric R. Fedyk و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان دادند که افزایش میزان سایتوکاین های TNF-IL-1 در محیط کشت فیبروبلاست های پوست، میزان بیان کموکاین

افراد مواجهه یافته با سولفورمستارد، کاهش مشاهده شده در سطح سرمی SDF-1 در مطالعه حاضر، قابل توجیه می باشد.

در مطالعه‌ای که توسط Jianguo Xu و همکاران در سال ۲۰۰۷ صورت گرفت، پس از آسیب ریه ایجاد شده با تزریق بلئومایسین داخل تراکتال موشها، میزان کموکاین SDF-1 در سرم و BAL افزایش یافته است. همین گروه در مطالعه دیگری که در تایید این نتایج انجام دادند، مشاهده کردند که در بافت‌های ریه افراد مبتلا به فیبروز ریوی ایدیوپاتیک (IPF) تعداد سلول‌های بیان‌کننده SDF-1 و CXCR4 نسبت به بافت ریه افراد کنترل سالم افزایش قابل توجهی یافته است (۴۰). در مطالعه فوق اثر کوتاه‌مدت آسیب بافت ریه بر سطح سرمی و بافتی کموکاین SDF-1 (شرایط حاد) بررسی شد و افزایش معناداری در مقدار این کموکاین در نمونه‌های سرم و BAL افراد مشاهده شد. با توجه به اینکه در مطالعه حاضر اثر طولانی مدت و مزمن مواجهه با سولفورمستارد بر سطح سرمی SDF-1 مورد بررسی قرار گرفت، به نظر می‌رسد ایجاد مدل‌های حیوانی مواجهه با آنالوگ‌های سولفورمستارد و بررسی اثر کوتاه مدت این مواجهه بر میزان این کموکاین در سرم و بافت ریه مدل‌های حیوانی در به دست آوردن نتایج دقیق‌تر مؤثر باشد.

Elena Colombo و همکاران در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲ با ایجاد شرایط هیپوکسی سیستمیک حاد در ۱۰ نفر، نشان دادند که تحت شرایط هیپوکسی، میزان کموکاین SDF-1 در پلاسما با افزایش همراه است (۴۱). با توجه به اینکه به نظر می‌رسد مصدومین شیمیایی پس از مواجهه با سولفورمستارد دچار حالت هیپوکسی در بدن خود شده باشند، پیشنهاد می‌شود مطالعه‌ای با هدف بررسی اثرات کوتاه مدت هیپوکسی ایجاد شده در اثر مواجهه با سولفورمستارد در مدل‌های حیوانی صورت بگیرد.

Wolfgang Jungraithmayr و همکاران در سال ۲۰۱۲ با مهار فعالیت پپتیدازی گلیکو پروتئین غشایی CD26/DPP-4 میزان بقای SDF-1 در پلاسما، ریه و طحال را افزایش دادند. این افزایش موجب مهاجرت تعداد بیشتری از سلول‌های بنیادی و پیش‌ساز بازسازی‌کننده به سمت ریه و ترمیم سریعتر آن گردید. نتایج این مطالعه نشان

SDF-1 را در این سلول‌ها کاهش می‌دهد. همچنین در این مطالعه میزان بیان این کموکاین در بافت پوست زخمی و آسیب دیده کاهش یافته بود (۳۷). از آنجایی که کموکاین SDF-1، یک فاکتور جاذب شیمیایی برای مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌های T در محیط *In vivo* بوده و موجب ادامه یافتن فرآیند التهاب در بافت آسیب دیده می‌شود، به نظر می‌رسد که این کاهش مقدار کموکاین SDF-1 در بافت ملتهب، مکانیسم سیستم ایمنی بدن برای جلوگیری از افزایش التهاب می‌باشد. در مطالعه ما سطح سرمی SDF-1 در جانبازان شیمیایی نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود. در مقایسه این نتایج شاید بتوان گفت که این کاهش می‌تواند پاسخ سیستم ایمنی به شدت پاسخ‌های التهابی در بافت‌های آسیب دیده جانبازان باشد، بدین ترتیب که با کاهش فراخوانی سلول‌های پیش‌ساز و التهابی به بافت‌ها، شدت التهاب را در این موضع‌ها کاهش دهد.

مطالعه Annika andersson و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان داد کموکاین SDF-1 در فراخوانی فیبروسیت‌ها از مغز استخوان به سمت ریه، در ترمیم آسیب ریوی ایجاد شده و نیز در ایجاد فیبروز ریه در بیماران مبتلا به IPF موثر است. میزان SDF-1 در پلاسمای بیماران IPF نسبت به گروه کنترل افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان داد ولی میزان آن در نمونه BAL این بیماران در مقایسه با گروه کنترل تفاوتی نداشت (۳۸). نتایج مطالعه حاضر می‌تواند با اختلافاتی که در فرآیند ترمیم و بهبودی آسیب‌های ریوی مصدومین شیمیایی وجود دارد، ارتباط داشته باشد. برای بررسی‌های دقیق‌تر در این زمینه، مطالعه میزان SDF-1 در بافت ریه می‌تواند سودمند باشد.

در مطالعه‌ای که توسط Brigitte N. و همکاران در سال ۲۰۰۶ انجام گرفت، نشان داده شد که به دنبال آسیب ریه ایجاد شده پس از پیوند تراکتال، بیان کموکاین SDF-1 در اپی‌تلیوم ریه افزایش می‌یابد که در نتیجه آن سلول‌های پیش‌ساز اپی‌تلیال بیان‌کننده گیرنده این کموکاین (CXCR4) به سمت ریه مهاجرت می‌کنند (۳۹). تفاوت مطالعه حاضر با مطالعه Brigitte N. در این است که بیان کموکاین SDF-1 در بافت ریه بررسی شده است و میزان سرمی آن مورد بررسی قرار نگرفته است. همچنین با توجه به عدم ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده در

## منابع

- Ghabili K, Agutter PS, Ghanei M, Ansarin K, Panahi Y, Shoja MM. Sulfur mustard toxicity: history, chemistry, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Crit Rev Toxicol*. 2011; 41(5):384-403.
- Ghanei M, Aslani J and Khateri S. Public health status of the Civil population of Sardasht 15 years following large-scale wartime exposure to sulfur mustard. *J Burns & Surg Wound Care*. 2003; 2(1): 7-10.
- Ghasemi H, Ghazanfari T, Yaraee R, Soroush MR, Ghassemi-Broumand M, Javadi MA et al. Evaluation of relationship between the serum level of inflammatory mediators and ocular injuries induced by sulfur mustard: sardasht – Iran cohort study *Int Immunopharmacol* . 2009; 9:1494-1498.
- Amiri S, Ghazanfari T, Yaraee R, Salimi H , Ebtakar M , Shams Jet al. level of GM-CSF 20 years after sulfur mustard exposure:sardasht–Iran cohort study.*Int Immunopharmacol*.2009; 9: 1499-1503.
- Khateri SH, Ghanei M, Keshavarz S, Soroush M, Haines D. Incidence of lung, eye, and skin lesions as late complication in 34000 Iranian with wartime exposure to mustard agent. *JOEM*. 2003; 45(11): 1136-1143.
- Ghazanfari T, Faghihzadeh S, Aragizadeh H, Sourosh M, Yaraee R, Hassan ZM, et al. Sardasht-Iran cohort study of chemical warfare victims: Design and Method. *Arch Iranian Med* 2009; 12(1): 5-14.
- Paromov V, Suntres Z, Smith M, Stone WL. Sulfure mustard toxicity following dermal exposure. *J Burns and wounds*. 2007; 7:60-85.
- Gao X, Ray R, Xiao Y, Ray P. Suppression of inducible Nitric Oxide Synthase expression and Nitric Oxide production by macrolide antibiotics in sulfure mustard – exposed airway epithelial cells. *Basic and Clinical Pharmacol and Toxicol* 2008; 103: 255-261.
- Balali-Mood M, Hefazi M. comparison of early and late toxic effects of sulfur mustard In Iranian veterans. *Basic Clin. Pharmacol Toxicol*. 2006; 99(4):273-82.

داد که تثبیت SDF-1 اندوژن در پلاسما و بافت آسیب- دیده می‌تواند به عنوان یک گزینه درمانی مؤثر و قابل دسترس برای افزایش مهاجرت سلول‌های بنیادی ترمیمی به موضع آسیب به منظور تسریع روند ترمیم در بافت‌های آسیب دیده مورد توجه قرار بگیرد(۴۲). با توجه به وجود مشکلات جدی ترمیمی در بافت‌های آسیب‌دیده مختلف جانبازان شیمیایی و نتایج مطالعه حاضر که کاهش معنادار کموکاین SDF-1 را در سرم افراد مبتلا به آسیب شدیدی ریوی را نشان داد، مطالعه و بررسی های بیشتر در مورد نقش کموکاین SDF-1 بر بهبود روند ترمیم بافت های آسیب دیده، می‌تواند نویدبخش درمانی مؤثر برای جانبازان شیمیایی کشورمان باشد.

Nicholas W. Lukacs و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که مهار اثر کموکاین SDF-1 بر گیرنده آن با استفاده از AMD3100، پارامترهای پاتولوژیک مرتبط با التهاب ریه در افراد آلرژیک را کاهش می‌دهد(۴۳).

همچنین Jose -Angel Gonzalo و همکاران در سال ۲۰۰۰ در مطالعه ای با مهار کردن SDF-1 و CXCR4، التهاب ریه آلرژیک و پاسخ‌دهی بالای ریه را در مدل حیوانی آسماتیک ایجاد شده با Ovalbumin کاهش دادند(۴۴). با توجه به دو مطالعه فوق به نظر می‌رسد کاهش کموکاین SDF-1 در سرم مصدومین شیمیایی، پاسخ سیستم ایمنی بدن این افراد برای کاهش التهاب بافت‌های مختلف این افراد باشد.

با توجه به کاهش معنادار سطح سرمی کموکاین SDF-1 در افراد مواجهه یافته با سولفورموستارد در مقایسه با گروه کنترل سالم در مطالعه حاضر، و نیز با در نظر گرفتن شرایط خاص التهابی و ترمیمی جانبازان شیمیایی و اثرات چندگانه و متفاوت SDF-1 بر تنظیم پاسخ های التهابی و ترمیمی، پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری جهت بررسی ارتباط SDF-1 با شدت عوارض تأخیری و اندازه گیری سطح این کموکاین در بافت‌های مختلف آسیب دیده جانبازان به ویژه ریه، پوست و چشم صورت بگیرد.

- 10 . Vosoughi AA, Bagheri AM, Esmaeili A. Type IV skin test reaction in mustard gas exposed patients. *Irn J Med Sci*; 2000; 25(3-4):105-108.
11. Ishida H, Ray R, Ray P. Sulfur mustard downregulates iNOS expression to inhibit wound healing in human keratinocyte model. *J Dermatol Sci*. 2008; 49(3):207-216.
12. Javadi MA, Yazdani S, Sajjadi H, Jadidi K, Karimian F, Einollah B, et al. Chronic and delayed onset of keratitis: Report of 48 patients and review of literature. *Ophthalmol*. 2005; 112(4):617-25.
13. Broxmeyer HE, Kim CH, Cooper SH, Hangoc G, Hromas R, Pelus LM. Effects of CC, CXCL1, CXCL2, and CXCL3 chemokines on proliferation of myeloid progenitor cells, and insights into SDF-1-induced chemotaxis of progenitors. *Ann N Y Acad Sci*. 1999; 872:142-162.
14. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human chemokines: an update. *Annu. Rev. Immunol*. 1997; 15: 675-705.
15. Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, Takakura N, Nishikawa S, Kitamura Y, et al. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXCL12 chemokine PBSF/SDF-1. *Nature*. 1996; 382: 635-638.
16. Zlotnik A, Morales J, Hedrick JA. Recent advances in chemokines and chemokine receptors. *Crit Rev Immunol*. 1999; 19: 1-47.
- 17 . Cyster JG. Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science*. 1999; 286: 2098-2102.
18. Rojas M, Xu J, Woods CR, Mora AL, Spears W, Roman J et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33:145-152.
- 19 - Tashiro K, Tada H, Heilker R, Shirozu M, Nakano T, Honjo T. Signal sequence trap: a cloning strategy for secreted proteins and type I membrane proteins. *Science*. 1993; 261: 600-603.
- 20 - Shirozu M, Nakano T, Inazawa J, Tashiro K, Tada H, Shinohara T, et al. Structure and chromosomal localization of the human stromal cell-derived factor 1 (SDF1) gene. *Genomics*. 1995; 28: 495-500.
- 21- Hayakawa J, Migita M, Ueda T, Fukazawa R, Adachi K, Ooue Y, et al. Dextran sulfate and stromal cell derived factor-1 promote cxcr4 expression and improve bone marrow homing efficiency of infused hematopoietic stem cells. *J Nippon Med Sch*. 2009; 76(4):198-208.
- 22 - Grunewald M, Avraham I, Dor Y, Bachar-Lustig E, Itin A, Yung S, et al. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell*. 2006; 124: 175-189.
- 23 - Katayama Y, Battista M, Kao WM, Hidalgo A, Peired AJ, Thomas SA, et al. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell*. 2006; 124: () 407-421.
- 24 - Wright LM, Maloney W, Yu X, Kindle L, Collin-Osdoby P, Osdoby P. Stromal cell-derived factor-1 binding to its chemokine receptor cxcr4 on precursor cells promotes the chemotactic recruitment, development and survival of human osteoclasts. *Bone*. 2005; 36(5): 840-853.
- 25- Kucia M, Wojakowski W, Reza R, Machalinski B, Gozdzik J, Majka M, et al. The migration of bone marrow-derived non-hematopoietic tissue-committed stem cells is regulated in an sdf-1-, hgf-, and lif-dependent manner. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2006; 54(2): 121-135.
- 26- Shen H, Cheng T, Olszak I, Garcia-Zepeda E, Herrmann Lu. CXCR-4 desensitization is associated with tissue localization of hemopoietic progenitor cells. *J Immunol*. 2001; 166: 5027-5033.
27. Aiuti A, Webb IJ, Bleul C, Springer T, Gutierrez-Ramos JC. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34+ progenitors to peripheral blood. *J Exp Med*. 1997; 185:111-120.
- 28 . Levesque J.P, Hendy J, Takamatsu Y, Simmons P.J, Bendall L.J. Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem cell mobilization induced by G-CSF or cyclophosphamide. *J Clin Invest*. 2003; 111: 187-196.
29. Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, Tepper OM, Bastidas N, Kleinman ME, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic



- gradients through hif-1 induction of sdf-1. *Nat Med.* 2004; 10(8): 858–864.
30. Ghadge A , Muhlstedt S , Ozcelik C , Bade M. SDF-1 as a therapeutic stem cell homing factor in myocardial infarction .*Pharmacol Ther* 2011; 129: 97–108.
31. 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.* 1997; 112: 734-7.
32. Javadi MA, Yazdani S, sajjadi H. Chronic and delayed onset of keratitis: Report of 48 patients and review of literature. *Ophthalmol.* 2005; 112(4): 617-25.
33. Balali-Mood M, Hefazi M, mahmoudi M, Jalali E. longterm complications of sulfur mustard poisoning in severe intoxicated Iranian veterans. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005; 19(6): 713-21.
34. Ghazanfari T, Yaraee R, Kariminia A , Ebtekar M, Faghihzadeh S, Vaez-Mahdavi MR et al. Alterations in the serum level of chemokines 20 years after sulfur mustard exposure: sardasht–Iran cohort study. *Int Immunopharmacol.* 2009; 9:1471-1476.
35. Yaraee R, Ghazanfari T, Ebtekar M, Ardestani SK, Rezaei A, Kariminia A et al. Alterations in serum levels of inflammatory cytokines (TNF, IL-1alpha, IL-1beta and IL-1Ra) 20 years after sulfur mustard exposure: Sardasht-Iran cohort study. *Int Immunopharmacol.* 2009; 9(13-14): 1466-70.
36. Ghasemi H, Ghazanfari T, Yaraee R, Soroush MR, Ghassemi-Broumand M, Poorfarzam SH , et al. Evaluation of relationship between the serum level of inflammatory mediators and ocular injuries induced by sulfur mustard: sardasht – Iran cohort study. *Int Immunopharmacol.* 2009; 9:1494-1498.
37. Eric R, Jones D, Hilary O. D, , Richard P. Ph, Timothy M, Timothy A, et al.. Expression of Stromal-Derived Factor-1 Is Decreased by IL-1 and TNF and in Dermal Wound Healing. *J Immunol* 2001; 166: 5749-5754.
38. Andersson-Sjoland A, de Alba CG, Nihlberg K, Becerril C, Ramirez R, Pardo A, et al. Fibrocytes are a potential source of lung fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol.* 2008; 40: 2129–40.
39. Brigitte N, Gomperts JA, Belperio P, Nagesh Rao, Scott H, Randell Michael C, et al. Circulating Progenitor Epithelial Cells Traffic via CXCR4/CXCL12 in Response to Airway Injury. *J Immunol.* 2006; 176: 1916–1927.
40. Jianguo Xu, Mora A , Shim H, Stecenko A, Kenneth L. and Rojas M. Role of the SDF-1/CXCR4 Axis in the Pathogenesis of Lung Injury and Fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2007; 37: 291–299.
41. Colombo E , Marconi C, Taddeo A, Cappelletti M, Villa M, Marzorati M, et al. Fast reduction of peripheral blood endothelial progenitor cells in healthy humans exposed to acute systemic hypoxia. *J Physiol.* 2012 ; 590(3): 519–531.
42. Jungraithmay W ,De Meester I, Matheussen V, Baerts L, Arni S and Weder W . CD26/DPP-4 inhibition recruits regenerative stem cells via stromal cell-derived factor-1 and beneficially influences ischaemiareperfusion injury in mouse lung transplantation. *Immunol Ser.* 2012; 41: 1166-1173.
43. Lukacs N, Berlin A, Schols D, Renato T, Skerlj J and Bridger G . AMD3100, a CxCR4 Antagonist, Attenuates Allergic Lung Inflammation and Airway Hyperreactivity. *Am J Pathol.* 2002; 160: 1353–1360.
44. Gonzalo J, M.Lloyd C, Peled A, Delaney T, Coyle A and Gutierrez-Ramos J. Critical Involvement of the Chemotactic Axis CXCR4/Stromal Cell-Derived Factor-1a in the Inflammatory Component of Allergic Airway Disease. *J Immunol.* 2000; 165: 499–508.