Archive of SID

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۳، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۷
صفحات: ۱۳۲-۱۲۵

بررسی اثر درمانی داروی کلشی سین در آسیب دیررس ریوی ناشی از گاز خردل در مدل حیوانی

تورج روشن ضمیر* M.D، فاطمه قسامی** M.D، سید علی علوی** M.D، نوشین میرخشتی✍ M.D، لیلا انصاری** M.D

چکیده

هدف : در میان عوارض دیررس مصدومین گاز خردل (SM)، مشـکلات ریوی من جمله برونشیت مزمن و فیبروز ریوی مهمترین علت ناتوانی بلندمدت در بیماران می‌باشـد. کلشـی سـین دارای اثرات ضد التهابی بوده و در فیبروز ریوی ناشی از سایر علل کاربرد داشـته اسـت. براین اساس و با توجه به نقش استرس اکسیداتیو در پاتوژنز برونشیت مزمن و فیبروز ریوی، در این مطالعه به بررسی اثر درمانی کلشی سین در عوارض دیررس SM و نقش استرس اکسیداتیو در مکانیسم اثر آن در مدل حیوانی پرداختیم.

مواد و روشها : یک ماه پس از مواجهه موشهای سوری نر با SM، یک گروه شش تایی به عنوان گروه مداخله و یک گروه ۶ تایی به عنوان شاهد مثبت انتخاب شد. پس از کشتن و نمونه گیری از موشها، شاخصهای التهاب و فیبروز ریوی و استرس اکسیداتیو در گروه مداخله با گروه شاهد مثبت مقایسه شد.

یافته‌ها : نتایج حاصل نشـان‌دهنده کاهش درصد فضای آلوئولی ریه و ویتامین C و کاتالاز سـرمی و افزایش ارتشاح لنفوسیتها و هیدروکسی پرولین بافتی و افزایش مقدار H_2O_2 سرمی در گروه شاهد مثبت در مقایسه با شاهد منفی بود. در گروه مداخله افزایش ویتامین C و کاتالاز سرمی و کاهش هیدروکسی پرولین بافتی و H_2O_2 سرمی نسبت به گروه شاهد مثبت مشاهده گردید. علاوه بر این در سایر موارد تفاوت معناداری بدست نیامد.

نتیجه گیری : کلشـی سـین به واسطهٔ کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو ناشی از گاز خردل می‌تواند در کاهش عوارض دیررس ریوی گاز خردل موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: گاز خردل، استرس اکسیداتیو، کلشی سین، عوارض دیررس ریوی

دریافت مقاله: ۸۷/۴/۲۳ پذیرش مقاله: ۸۷/۶/۲۴

✍ نویسنده مسئول: پزشک عمومی، شرکت تحقیقاتی حکیمان شرق
* استادیار دانشکده پزشکی، گروه داخلی، بیمارستان الزهرا، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
** پزشک عمومی، شرکت تحقیقاتی حکیمان شرق

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه:

گاز خردل یا سولفور موستارد (SM) اولین بار در سال۱۸۲۲ توسط Despretz ساخته شد و در جنگهای متعددی بعنوان سلاح شیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. آخرین استفاده از آن در جنگ عراق با ایران در سالهای ۱۹۸۸-۱۹۸۳ گزارش شده است (۱).

SM یک ترکیب الکتروفیلیک و alkylating است که گروه الکیل خود را به پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک سلولهای زنده و اجزای کمپلمان منتقل می‌کند و سبب ایجاد اتصالات متقاطع در مولکولهای هدف می‌شود (۳و۲) و به این ترتیب در نهایت منجر به مرگ سلولها می‌گردد (۴). سمیت گاز خردل بسیار بیشتر از قدرت آن در کشتن مصدومین در فاز حاد مواجهه است. در واقع بر اساس مطالعات انجام شده بر روی مصدومین شیمیایی گاز خردل در جنگ جهانی اول و جنگ ایران و عراق، ٪۴-۳ افراد در زمان مواجهه فوت کرده‌اند در حالیکه تمامی آنها به عوارض مواجهه با سم مبتلا شده اند. اندامهایی که در معرض تماس با سم هستند یعنی چشمها، راههای هوایی و پوست بیشترین آسیب را متحمل می‌شوند (۱).

سالها پس از مواجهه با SM همچنان ارگانهای مذکور دچار عوارض ناشی از سم هستند، بطوریکه در مطالعه خاطری و همکاران بر روی ۳۴۰۰۰ مجروح شیمیایی ایرانی ۱۳ تا ۲۰ سال پس از مواجهه، شایعترین عارضه دیررس مجروحان در ریه‌ها (٪۴۲/۵) سپس در چشمها (٪۳۹) و پوست (٪۲۴/۵) گزارش شده است (۵). مشکلات ریوی مهمترین علت ناتوانی بلند مدت در مجروحان شیمیایی گاز خردل هستند (۱). با این وجود متاسفانه در حال حاضر هیچ پروتکل درمانی برای آسیبهای ریوی ناشی از گاز خردل وجود ندارد.

از سوی دیگر با توجه به نقش اثبات شده استرس اکسیداتیو در پاتوژنز التهاب بافتی (۶)، درآسیب دیررس ناشی ازگاز خردل نیز با توجه به پایدار بودن فرآیند التهاب در مجاری تنفسی تحتانی (۷) و پیشرونده بودن سیر بیماری (۸) احتمال دخیل بودن استرس اکسیداتیو و گونه‌های فعال اکسیژن دار و کمبود آنتی اکسیدانهای دفاعی بدن در مقابل آنها مطرح می‌باشد و بنابراین داروهایی که بتوانند از شدت استرس اکسیداتیو بکاهند در جلوگیری از پیشرفت آسیب و یا درمان عوارض دیررس ریوی مجروحان می‌توانند موثر واقع شوند.

کلشی سین یک داروی ضد التهابی است که از طریق اتصال به پروتئین داخل سلولی توبولین و در نتیجه جلوگیری از پلیمریزاسیون آن با میکروتوبولها و جلوگیری از مهاجرت لکوسیت‌ها و فاگوسیت‌ها عمل می‌کند (۹). گذشته از آن کلشی سین جزء پروتکل درمانی فیبروز ریوی ایدیوپاتیک نیز می‌باشد (۱۰) و در برخی مقالات اثرات پیشگیرانهٔ آن در ایجاد فیبروز ریوی به اثبات رسیده است (۱۱).

بنابراین با توجه به اثر کلشی سین بر کاهش التهاب و درمان فیبروز ریوی و با توجه به اینکه برونشیت مزمن و فیبروز ریوی دو تابلوی بالینی شایع در آسیب دیررس ریوی ناشی از SM هستند و با عنایت به نقش احتمالی استرس اکسیداتیو در ایجاد عوارض دیررس SM، هدف این مقاله بررسی اثر درمانی کلشی سین بر عوارض دیررس ریوی SM و نقش استرس اکسیداتیو در مکانیسم اثر داروی فوق و پاتوژنز آسیب دیررس ناشی از SM می‌باشد. فاکتورهای مورد بررسی جهت ارزیابی استرس اکسیداتیو شامل: پراکسید هیدروژن، ویتامین C و آنزیم کاتالاز می‌باشد.

مواد و روشها:

در یک مطالعه تجربی، ۲۰ موش سوری نر ۲±۲۳ گرمی که در شرایط با دمای کنترل شده و سیکل روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و تغذیه با غذای استاندارد نگهداری می‌شدند، به مدت ۱۵ دقیقه در معرض mg/m ۳۶۰۰ گاز خردل بصورت تنفسی قرار گرفتند. پس از یک ماه، از بین موشهای زنده مانده، به صورت تصادفی، یک گروه ۶ تائی بعنوان مورد و یک گروه ۶ تائی به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. ۸ موش سوری نر سالم نیز بدون مواجهه با گاز خردل ، بعنوان شاهد منفی طرح در نظر گرفته شدند. شایان ذکر است کلیهٔ مراحل کار با حیوانات در این طرح توسط کمیتهٔ اخلاق در پژوهش دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان مورد تایید قرار گرفته است.

در گروه مداخله، کلشی سین ابتدا بمدت یک هفته روزانه با غلظت mg/lit ۰/۴ در آب خوراکی داده شد و در هفته دوم دوز دارو نصف گردید. پس از گذشت یک هفته از قطع دارو، موشهای سه گروه

www.SID.ir

Archive of SID

sacrifice شـد و خونگیـری انجام پذیرفت. ریه راسـت برای تهیه مقاطع میکروسـکوپی و ریه چپ برای بررسی محتوای هیدروکسی پرولین برداشـته شـد. ریه چپ موشـها برای خشک شدن بمدت ۶ ساعت در دمای ۹۰ °C قرار داده و سپس توزین شد. برای هیدرولیز کلاژن، ریه‌ها در اسـید کلریدریک ۶ نرمال و دمای ۱۱۰ °C بمدت ۱۲ ساعت قرار داده شدند و به روش Woessner مقدار هیدروکسی پرولیـن آنها تعییـن گردید (۱۲). پس از انجام مراحل آماده سـازی بافت و تهیه برش از ریه موشـها و رنگ آمیزی H&E، با اسـتفاده از برنامه کامپیوتری matlab درصد فضای آلوئولی آنها تعیین شـد. علاوه بر آن لامهای تهیه شده توسط پاتولوژیست بررسی و شمارش افتراقی سـلولهای التهابی در بافت ریه انجام شد. در نمونه‌های سرم موشـها، اندازه گیری H_2O_2 بـه روش wolff (۱۳) و ویتامین C به روش Roe و Kuether (۱۴) و کاتـالاز به روش Aebi (۱۵) انجام گردید.

در نهایت آنالیز داده‌ها توسـط نرم افزار SPSS 13 صورت گرفت. با اسـتفاده از آزمون آماری کولموگروف – اسمیرنوف پیروی داده‌ها از توزیع نرمال بررسـی شد. بر این اساس برای مقایسه متغیرهایی که از توزیـع نرمال پیروی می‌کردند از آزمون آماری ANOVA و برای سـایر موارد از آزمون نان پارامتریک Kruskal wallis استفاده شد. علاوه بر این جهت تعیین اختـلاف بین گروهها از آزمون Tukey-HSD post hoc استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اسـت. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

بر اساس نتـایج حاصـل از آزمـون کولمـوگروف – اسمیرنوف برای بـرآورد نرمال بودن توزیع داده‌ها تنها هیدروکسـی پرولین از توزیع نرمال پیروی نمی‌کرد. درگروه شـاهد مثبت در مقایسه با نمونه‌های نرمـال، درصد فضای آلوئولی کاهش (P value< ۰/۰۵) و ارتشـاح سـلول‌های لنفـوسـیتی (P value< ۰/۰۵)، مقـدار هیـدروکسـی پـرولیـن بـافت ریـه (P value< ۰/۰۵) و غلظت H_2O_2 سـرمی (P value< ۰/۰۵) افزایش یافته بود. همچنین ویتامین C در سـرم مـوش‌هـای شـاهـد مثبت کمتـر از نمـونـه‌هـای نـرمال بـود (P value< ۰/۰۰۱). فعالیـت اختصاصـی آنزیم کاتـالاز نیز در این موشها در مقایسـه با گروه شاهد منفی کاهش یافته بود؛ اگرچه این کاهش در سطح معنی دار نبود.

در گروه دریافت کننده کلشی سین مقدار هیدروکسی پرولین بافت ریه و غلظت سرمی H_2O_2 در مقایسه با گروه شاهد مثبت به صورت معنی دار کاهـش یافته بود (P value< ۰/۰۵). علاوه بر این افزایش معنی دار در فعالیـت اختصاصی آنزیم کاتالاز و غلظت ویتامین C سـرم در این گروه نسبت به گروه شاهد مثبت مشـاهده گردید (P val ۰/۰۵-ue>). ارتشاح لنفوسیتها در گروه دریافت کننده کلشی سین در مقایسه با شاهد مثبت کاهش یافته بود؛ گرچه این تفاوت در حد معنی دار نبود. مقادیر Mean ± SD درصد فضای آلوئولی، هیدروکسی پرولین واحد وزن ریه، درصد ارتشاح لنفوسیتها در مقایسه با سایر سلولهای التهابی، غلظت سرمی H_2O_2، ویتامین C و فعالیت اختصاصی آنزیم کاتالاز در گروههای مختلف در جدول شماره یک ثبت گردیده است.

جدول شماره یک: Mean ± SD درصد فضای آلوئولی، هیدروکسی پرولین واحد وزن ریه، درصد ارتشاح لنفوسیتها در مقایسه با سایر سلولهای التهابی، غلظت H_2O_2، ویتامین C و کاتالاز در گروههای مختلف

شاخصها / گروه‌ها	شاهد منفی	شاهد مثبت	کلشی سین
درصد فضای آلوئولی	۶۰/۴۰±۱/۷۴	۵۶/۹۶±۳/۰۰	۵۴/۵۳±۱/۱۳
هیدروکسی پرولین واحد وزن ریه (mg/g)	۶/۶۸±۰/۴۲	۷/۵۰±۱/۰۸	۶/۹۷±۰/۹۴
درصد ارتشاح لنفوسیتها در مقایسه با سایر سلولهای التهابی	۴/۸±۲/۱۷	۱۲±۵/۷	۷/۷±۵/۹
H_2O_2 (µM)	۸/۹۵±۱/۹۵	۱۰/۰۱±۰/۴۵	۶/۴۶±۰/۳۱
ویتامین C (mg/dl)	۳۴/۲۵±۱۷/۳۷	۱۶/۸۴±۲/۹۵	۲۵/۰۲±۴/۳۲
کاتالاز (µmol H_2O_2 decomposed/ min)	۱۰/۵±۰/۵	۵/۷±۰/۷	۱۳±۰/۸

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری:

مشکلات ریوی مهمترین علت ناتوانی بلند مدت مجروحان شیمیایی هستند (۱). بر اساس نتایج یک مطالعه بر روی ۱۹۷ سرباز ایرانی ۱۰ سال پس از مواجهه با گاز خردل، عوارض ریوی شامل برونشیت مزمن (۵۸٪)، فیبروز ریوی (۱۲٪)، آسم (۱۰٪)، باریک شدن راههای هوایی بزرگ (۹٪) و برونشکتازی (۸٪) می‌باشد (۱۶).

نتایج مطالعه حاضر نشاندهنده کاهش معنی دار درصد فضای آلوئولی در گروه شاهد مثبت (دریافت کننده گاز خردل) نسبت به گروه شاهد منفی است که می‌تواند به دو علت باشد ؛ اول ارتشاح سلولهای التهابی و دوم افزایش کلاژن بافتی و ایجاد فیبروز. در مطالعه حاضر در نمونه‌های پاتولوژی بررسی شده ارتشاح لنفوسیتها افزایش یافته است، علاوه بر آن افزایش معنی داری در محتوای هیدروکسی پرولین در واحد وزن ریه در گروه شاهد مثبت نسبت به گروه شاهد منفی مشاهده شد. نتایج حاصل دال بر بروز التهاب مزمن بافت ریه و به دنبال آن، رسوب کلاژن و بروز فیبروز ریوی ناشی از تماس استنشاقی با SM در مدل حیوانی می‌باشد.

این در حالی است که اگر چه فیبروز ریوی در بسیاری از مطالعات به عنوان عارضهٔ دیررس ریوی در مصدومین گاز خردل شناخته شده است (۲۳-۱۷)؛ با این حال در بررسی‌های اخیر انجام شده این عارضهٔ ریوی مورد تردید قرار گرفته و برونشیولیت به عنوان عارضهٔ دیررس در این مصدومین مطرح شده است (۲۷-۲۴). با در نظر گرفتن نتایج مطالعهٔ حاضر و افزایش کلاژن بافتی در موشهای مواجهه یافته با موستارد، به نظر می‌رسد بتوان فیبروز ریوی را به عنوان عارضهٔ گاز خردل مطرح نمود؛ هرچند مطالعات تکمیلی در نمونه‌های انسانی نمی‌تواند شواهد قطعی‌تری در این زمینه فراهم نماید.

مقدار H_2O_2 سرم موشهای شاهد مثبت، افزایش معنی داری را نسبت به گروه سالم نشان داد. پراکسیدهیدروژن از طریق واکنش دیسموتاسیون توسط آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) تولید می‌شود (۲۸)، با توجه به مطالعه انجام شده توسط Buezynskiو Gnitecki که حاکی از افزایش فعالیت SOD در سلولهای پلاکت پس از مواجهه in vitro با گاز خردل می‌باشد (۲۹)؛ به نظر می‌رسد بتوان افزایش تولید رادیکال سوپر اکسید که منجر به افزایش فعالیت آنزیم SOD و به دنبال آن، افزایش غلظت H_2O_2 شده است را به عنوان مکانیسم SM در ایجاد عوارض دیررس مطرح نمود. این در حالی است که با در نظر گرفتن عملکرد اختصاصی آنزیم کاتالاز یعنی از بین بردن پراکسید هیدروژن و تبدیل آن به آب و اکسیژن، می‌توان کاهش فعالیت این آنزیم را نیز به عنوان علت افزایش غلظت H_2O_2 در نمونه‌های سرم موشهای مواجهه یافته با گاز خردل مطرح کرد. بر این اساس پیشنهاد می‌گردد که در مطالعات بعدی مقادیر رادیکال سوپر اکسید و فعالیت آنزیم SOD سرم در مدل دیررس عوارض ناشی از SM اندازه گیری شود تا بدین وسیله اطلاعات دقیقتری در حیطهٔ مکانیسم اثر گاز خردل در ایجاد عوارض دیررس ریوی فراهم گردد.

همانطور که در نتایج حاصل از این مطالعه نیز مشهود است، کاهش معنی دار در غلظت ویتامین C در موشهای مواجهه یافته با SM در مقایسه با گروه کنترل دیده می‌شود که کاهش فرم احیای ویتامین C را می‌توان نشات گرفته از افزایش فرآیند استرس اکسیداتیو دانست. از آنجایی که ویتامین C مهمترین ماده آنتی اکسیدان موجود در راههای هوایی است (۳۰)کمبود آن به دنبال مواجهه با SM می‌تواند آثار مخرب قابل توجهی داشته باشد.

بنابر نتایج مطالعهٔ حاضر تجویز داروی کلشی سین در موشهای مواجهه یافته با موستارد، منجر به کاهش معنی دار در غلظت هیدروکسی پرولین بافتی به عنوان شاخص فیبروز ریوی گشته است. با توجه به کاهش در صد ارتشاح سلولهای لنفوسیت، می‌توان اثر ضدالتهابی این دارو را به عنوان مکانیسم دارو در کاهش فیروز بافتی مطرح نمود؛ این در حالی است که با توجه به عدم کارایی سایر داروهای ضد التهاب در درمان عوارض دیررس ریوی مصدومین مواجهه یافته با موستارد، به نظر می‌رسد مکانیسمهای دیگری غیر از خاصیت ضد التهابی این دارو در کاهش عوارض دیررس ریوی توسط کلشی سین موثر بوده اند.

بر این اساس افزایش ویتامین C بعنوان یک آنتی اکسیدان، همچنین افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و به دنبال آن کاهش غلظت H_2O_2 سرمی و در نهایت کاهش استرس اکسیداتیو را میتوان به عنوان

www.SID.ir

Archive of SID

مکانیسم داروی کلشی سین در کاهش عوارض دیررس ریوی ناشی از گازخردل مطرح کرد.

یافته‌های مطالعهٔ حاضر تعیین کنندهٔ نقش آنتی اکسیدانی کلشی سین در سرم موشهای تماس یافته با گاز خردل می‌باشد. خواص آنتی اکسیدانی این دارو برای اولین بار توسط Mourelle و همکاران در سال ۱۹۸۹ مطرح شد (۳۱). این ویژگی بعدها در سال ۱۹۹۴ توسط Muriel و Suarez مورد تایید قرار گرفت (۳۲). این در حالی است که در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۰ توسط Das و همکاران بر روی مدل حیوانی سیروز کبدی انجام شد، خاصیت آنتی اکسیدانی کلشی سین مورد تردید واقع گشت (۳۳). ولی در مجموع با توجه به یافته‌های مطالعهٔ حاضر و نتایج بدست آمده از مطالعات قبلی، به نظر می‌رسد داروی کلشی سین علاوه بر اینکه به عنوان یک داروی سیتوتوکسیک مطرح می‌باشد، دارای خواص آنتی اکسیدانی نیز می‌باشد و می‌تواند اثرات درمانی خود را با این مکانیسم اعمال نماید.

شایان ذکر است تا کنون خواص آنتی فیبروتیک کلشی سین به مهار تقسیم میتوز در سلولها و تحریک آنزیم کلاژناز توسط این دارو، همچنین مهار تاثیرات فیبروتیک‌زای فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF) (۳۴) و فاکتورهای کموتاکتیک مانند TGF (که از فاکتورهای موثر در فعالیت فیبروبلاستها می‌باشد)، نسبت داده می‌شد. بر این اساس مطالعه حاضر اولین مطالعه ای است که به بررسی نقش آنتی اکسیدانی این دارو در مهار فیبروز ریوی ناشی از گاز خردل پرداخته است (۳۷-۳۵).

در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۲ توسط Kumar و Gupta انجام شده است، تجویز داخل بطنی کلشی سین در مغز رات تغییری در سطح کاتالاز در راتهای مواجهه یافته با دارو ایجاد نکرده است (۳۸)؛ که علت آنرا می‌توان ناشی از فعالیت بسیار پایین کاتالاز در بافت مغز دانست (۳۹). از سوی دیگر افزایش آنزیم کاتالاز در گیاهان تیمار شده با داروی کلشی سین، منجر به افزایش فعالیت آنزیم در این گیاهان گشته است (۴۰).

در مجموع می‌توان چنین نتیجه گیری کرد که SM در آسیب دیررس خود نیز منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد و در مقابل داروی کلشی سین به واسطهٔ کاهش شدت استرس اکسیداتیو ناشی از SM اثرات درمانی خود را ظاهر می‌سازد. هر چند با در نظر گرفتن مطالب ضد و نقیض موجود در مورد نقش آنتی اکسیدانی کلشی سین، مطالعات بیشتری در زمینهٔ نقش این دارو و مکانیسم آن در مهار روند فیبروز مورد نیاز است. از سوی دیگر همانطور که قبلاً نیز به آن اشاره شد، با توجه به مطالعات اخیر انجام شده در مورد عوارض دیررس ریوی مصدومین گاز خردل و مورد تردید واقع شدن فیبروز ریوی در این مصدومین (۴۱)، مطالعات تکمیلی در مصدومین و نمونه‌های حیوانی می‌تواند به تشخیص قطعی اختلالات ریوی دیررس گاز خردل منجر گردد. علاوه بر این با در نظر گرفتن تعداد جانبازان شیمیایی مبتلا به عوارض دیررس ریوی در کشور ما، با انجام مطالعات تکمیلی جهت بررسی تاثیر داروی کلشی سین در درمان سایر عوارض دیررس ریوی گاز خردل، می‌توان گامی موثر در راستای درمان و جلوگیری از پیشرفت ضایعات ریوی در این بیماران برداشت.

References

1. Balali-Mood M, Hefazi M. The pharmacology, toxicology, and medical treatment of sulfur mustard poisoning. Fundam Clin Pharmacol 2005; 19: 297-315.

2. Papirmeister B, Feister AJ, Rabinson SI, Ford RD. Medical defense against mustard gas: toxic mechaniSM and pharmacological implications. U.S. CRC Press 1991. p. 180-99.

3. Mieer HL, Millard CB. Alterations in human Lymphocyte DNA caused by sulfur mustard can be mitigated by selective inhibitors of poly (ADP-ribose) Polymerase. Biochim Biophys Acta 1998; 1404: 367-76.

4. Moser J, Meier HL. Comparison of cell in

www.SID.ir

Archive of SID

development of interstitial fibrosis in renal allografts of recipients with familial Mediterranean fever? Transplant Proc 2006; 38: 473-6.

12. Woessner J. The determination Angiotensin II of hydroxyproline in tissue and protein samples containing SMall proportion of this imino acid. Arch Biochem Biophys 1961; 93: 440-7.

13. Wolff SP. Ferrous ion oxidation in presence of ferric ion indicator xylend orange for measure of hydroperoxides In: Packer L editor. Methods in enzymology. vol.233, Part C. San Diego: Academic Press; 1994. p. 183-6.

14. Roe JH, Kuether CA. The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative of dehydroascorbic acid. J Biol Chem 1943; 147: 399-407.

15. Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol 1984; 105: 121-5.

16. Emad A, Rezaian GR. The diversity of effects of sulphur mustard gas inhalation on respiratory system 10 years after a single heavy exposure: analysis of 197 cases. Chest 1997; 112: 734–8.

17. Hoesel LM, Flierl MA, Niederbichler AD, Rittirsch D, McClintock SD, Reuben JS, et al. Ability of antioxidant liposomes to prevent acute and progressive pulmonary injury. Antioxid Redox Signal 2008; 10: 973-81.

18. Emad A, Emad Y. Increased granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) and granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) levels in BAL fluid from patients with sulfur mustard gas-induced pulmonary fibrosis. J Aerosol Med 2007; 20: 352-60.

sulfur mustard – induced death of keratocytes and lymphocytes. J APPL Toxicol 2000; 1: 23-30.

5. Khateri S, Ghanei M, Keshavarz S, Soroush M, Haines D. Incidence of lung, eye, and skin lesions as late complications in 34,000 Iranians with wartime exposure to mustard agent. J Occup Environ. Med 2003; 45: 1136-43.

6. Mitchell RN, Cotran RC. Cell injury, adaptation and death. In: Robbins Basic pathology edited by Kumar V, Cotran R, Robbins SL. Philadelphia, W.B. Saunders company; 2003. P. 9-11.

7. Emad A, Rezaian GR. Immunoglobulins and cellular constituents of the BAL fluid of patients with sulphur mustard gas-induced pulmonary fibrosis. Chest 1999; 115: 1346-51.

8. Aghanouri R, Ghanei M, Aslani J, Keivani-Amine H, Rastegar F, Karkhane A. Fibrogenic cytokine levels in bronchoalveolar lavage aspirates 15 years after exposure to sulphur mustard. Am J Physiol Lung Cell Mol Hysiol 2004; 287: 1160-64.

9. Wagner W, Khanna P, Furst DE. Nonsteroidal anti inflammatory drugs, disease-modifying antirheumatic drugs, nonopioid analgesics & drugs used in gout In: Basic & Clinical Pharmacology edited by Katzung BG. Boston, The Mc Graw-Hill companies; 2004. p. 597.

10. Talmadge E, King JR, Schwarz MI. Idiopathic Interstitial pneumonia. In: Murray Jf, Nadel JA, Mason RJ, Boushey HA editors. Textbook of respiratory medicine. Philadelphia, W.B.Saunders Company; 2000. p.1680-3.

11. Ozdemir BH, Ozdemir FN, Sezer S, Sar A, Haberal M. Does colchicine have an antifibrotic effect on

www.SID.ir

Archive of SID

years. Pulmonary Pharma Therap 2006; 19: 148–53.

27. Ghanei M, Shohrati M, Harandi AA, Eshraghi M, Aslani J, Alaeddini F, et al. Inhaled corticosteroids and long-acting beta 2-agonists in treatment of patients with chronic bronchiolitis following exposure to sulfur mustard. Inhal Toxicol 2007; 19: 889-94.

28. Mayes PA, Botham KM. Biologic oxidation. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW editors. Harper's illustrated Biochemistry. NewYork, Mc Graw-Hill companies; 2003. p. 91.

29. Buczynski A, Gnitecki W. Effect of mustard gas on supraoxide diSMutase activity and the level of malonyl dialdehyde: in vitro studies. Int J Occup Med Environ Health 1999; 12: 119-22.

30. Siwik DA, Pagano PJ, Colucci WS. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. Am J Physiol Cell Physiol 2001; 280: 53-60.

31. Mourelle M, Fraginals R, Rodriguez L, Favari L, Perez-Alvarez V. Protective effect of colchiceine against acute liver damage. Life Sci 1989; 45: 891–900.

32. Muriel P, Suarez OR. Role of lipid peroxidation in biliary obstruction in the rat. J Appl Toxicol 1994; 14: 423–6.

33. Das D, Pemberton PW, Burrows PC, Gordon C, SMith A, McMahon RFT, Warnes TW. Antioxidant properties of colchicine in acute carbon tetrachloride induced rat liver injury and its role in the resolution of established cirrhosis. Biochim Biophys Acta 2000; 1502: 351–62.

34. Peterson TC, Isbrucker RA, Hooper ML. In vitro effect of platelet-derived growth factor on

19. Emad A, Emad Y. Relationship Between Eosinophilia and Levels of Chemokines (CCL5 and CCL11) and IL-5 in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Patients with Mustard Gas-induced Pulmonary Fibrosis. J Clin Immunol 2007; 28.

20. Emad A, Emad Y. Levels of cytokine in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid in patients with pulmonary fibrosis due to sulfur mustard gas inhalation. J Interferon Cytokine Res 2007; 27: 38-43.

21. Balali-Mood M, Hefazi M. Comparison of early and late toxic effects of sulfur mustard in Iranian veterans. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2006; 99 :273-82.

22. Hefazi M, Attaran D, Mahmoudi M, Balali-Mood M. Late respiratory complications of mustard gas poisoning in Iranian veterans. Inhal Toxicol 2005; 17: 587-92.

23. Aghanouri R, Ghanei M, Aslani J, Keivani-Amine H, Rastegar F, Karkhane A. Fibrogenic cytokine levels in bronchoalveolar lavage aspirates 15 years after exposure to sulfur mustard. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2004; 287: 1160-4.

24. Ghanei M, Mokhtari M, Mir Mohammad M, Aslani J. Bronchiolitis obliterans following exposure to sulfur mustard: chest high resolution computed tomography. Eur J Radiol 2004; 52: 164–9.

25. Ghanei M, Tazelaar HD, Chilosi M, Harandi AA, Peyman M, Akbari HH, et al. An International collaborative pathologic study of surgical lung biopsies from mustard gas-exposed patients. Res Med 2008; 102: 825–30.

26. Ghanei M, Panahi Y, Mojtahedzadeh M, Khalili AH, Aslani J. Effect of gamma interferon on lung function of mustard gas exposed patients, after 15

www.SID.ir

Archive of SID

fibroproliferation and effect of cytokine antagonists. Immunopharmacol 1994; 28: 259.

35. Entzian P, Schlaak M, Seitzer U. Antiinflammatory and antifibrotic properties of colchicine: implications for idiopathic pulmonary fibrosis. Lung 1997; 175: 41.

36. Rennard SI, Bitterman PB, Ozaki T. Colchicine suppresses the release of fibroblast growth factors from alveolar macrophages in vitro: the basis of a possible therapeutic approach to the fibrotic disorders. Am Rev Respir Dis 1988; 137:181.

37. Diegelmann RF, Peterkofsky B. Inhibition of collagen secretion from bone and cultured fibroblasts by microtubular disruptive drugs. Proc Natl Acad Sci USA 1972; 69: 892.

38. Veerendra Kumar MH, Gupta YK Intracerebroventricular administration of colchicine produces cognitive impairment associated with oxidative stress in rats. Pharm Biochem Behav 2002; 73: 565–71.

39. Moreno S, Meganini E. Immunocytochemical localization of catalase in rat brain. Soc Neurosci Abstr 1992; 18: 673.

40. Drazkiewicz M, Skózyńska-Polit E, Wanke M, Swiezewska E. The activity of antioxidant enzymes in Arabidopsis thaliana exposed to colchicine and H2O2. Cell Mol Biol Lett 2003; 8: 777-81.

41. Ghanei M, Harandi AA. Long term consequences from exposure to sufur mustard: a review. Inhal Toxicol 2007; 19: 451-6.

www.SID.ir