

بررسی اثر محافظتی آمیفوستین در کاهش آسیب‌های بافتی ریه ناشی از آلوده شدن موش‌های صحرایی به سولفور موستارد در مرحله حاد

غلامرضا کاکا^۱، سید همایون صدرایی^{۲*}، محمد حسین اسدی^۳، علی پندونه^۳، مهوش جعفری^۳، مهدی صابری^۳

^۱ مرکز علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا..... (عج)، تهران، ایران

^۲ مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا..... (عج)، تهران، ایران

^۳ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا..... (عج)، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: استنشاق سولفور موستارد [Sulfur mustard (HD)] باعث التهاب و آسیب بافت اپی‌تلیال ریه می‌گردد. نتایج متفاوتی از استفاده محافظتی از داروی آمیفوستین [Amifostine (AM)] در مقابل HD منتشر شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثر محافظتی داروی آمیفوستین در جلوگیری از آسیب‌های بافت ریه ناشی از HD در موش‌های صحرایی می‌باشد.

روش بررسی: در این تحقیق تجربی، ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد Albino wistar به وزن 20 ± 20 گرم به صورت تصادفی به ۴ گروه ۵ تایی شامل گروه نرمال سالین (NS)، گروه فقط داروی AM، گروه HD با دوز ۰/۲۵ درصد و گروه محافظت با آمیفوستین [HD+AM] تقسیم شدند. NS و محلول HD به صورت داخل تراشه ای در گروه‌های مربوط تزریق شدند. گروه‌های فقط دارو و درمان با AM به مدت ۱۴ روز دارو را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. در پایان، میزان التهاب و مرگ سلولی در بافت ریه به وسیله رنگ‌آمیزی‌های تولوئیدین بلو، هماتوکسیلین-ائوزین و TUNEL/ارزیابی شده و غلظت گلوپتایون (GSH) سرم اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: اختلاف معنی‌داری بین دو گروه NS و فقط AM مشاهده نشد. آمیفوستین سبب کاهش معنی‌دار تعداد ماست‌سل‌ها در گروه HD+AM در مقایسه با گروه HD شد. میزان خونریزی بافت ریوی در گروه HD به شدت افزایش یافته، در حالی که داروی آمیفوستین توانست از افزایش آن جلوگیری کند. نتایج نشان دهنده کاهش معنی‌دار غلظت GSH گروه HD نسبت به گروه NS بود. داروی آمیفوستین از کاهش بیش از حد غلظت GSH نسبت به گروه HD جلوگیری کرد. HD سبب افزایش معنی‌دار سلول‌های آپوپتوتیک (AI) در گروه HD در مقایسه با گروه NS شد. هم‌چنین داروی آمیفوستین از بروز AI پارانشیم ریه در مقایسه با گروه HD تا اندازه‌ای ممانعت کرد.

نتیجه‌گیری: استفاده از آمیفوستین قبل از مواجهه موش‌های صحرایی آلوده به سولفور موستارد به طور معنی‌داری از افزایش ماست سل و خونریزی ریوی و میزان آپوپتوز بافت ریوی جلوگیری کرده و از کاهش غلظت GSH سرم تا حد زیادی ممانعت کرد.

واژگان کلیدی: سولفور موستارد، بافت ریه، آمیفوستین، موش صحرایی.

مقدمه

سولفور موستارد [Sulfur mustard (HD)] به عنوان یک عامل شیمیایی در جنگ تحمیلی عراق علیه ایران به طور گسترده‌ای

مورد استفاده قرار گرفت (۱، ۲). این ماده شیمیایی دارای اثرات تخریب کننده سلولی با خواص موتازنیک در سلول‌ها می‌باشد (۳، ۴) که سبب الکلایسایون ترکیبات سلولی، توقف سیکل سلول، ساخته و رها شدن واسطه‌های التهابی و سیتوکینازهای التهابی وسیعی می‌شود (۵، ۶). چشم، پوست و دستگاه تنفسی از اعضای هستند که توسط HD مستقیماً آلوده و التهاب و آسیب بافتی ایجاد می‌شوند (۷، ۸). التهاب

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا..... (عج)، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی،

سید همایون صدرایی (e-mail: h_sadraie@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۷/۱۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۱۰/۱۵

صورت تصادفی در چهار گروه مساوی ۵ تایی به ترتیب زیر تقسیم بندی شدند:

گروه یک حلال (Normal Saline: NS): رت‌های این گروه NS را به مقدار ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم به صورت داخل تراشه‌ای با استفاده از سرنگ انسولین یک بار دریافت نمود. گروه دو دارو (AM): این گروه داروی AM را به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت نمود. گروه سه خردل (HD): این گروه محلول HD را به میزان ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم به صورت داخل تراشه‌ای تنها یک بار دریافت نمود.

گروه چهار درمان (HD+AM): این گروه یک ساعت قبل از دریافت محلول HD، داروی AM را دریافت نمود.

به منظور تزریق داخل تراشه‌ای، حیوانات با استفاده از کتامین (Ketamine) با دوز ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلیزین (Xylezine) با دوز ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش شده و ناحیه جلوی گردن تحت شرایط استریل جراحی شده و نای در معرض دید قرار گرفت و پس از تزریق، پوست بخیه شد. گروه‌های دو و چهار به مدت ۱۴ روز، روزانه یک بار AM را دریافت نمودند. وزن کشتی حیوانات در تمام گروه‌ها در روز صفر (شروع آزمایش) و چهاردهم انجام شد. وزن ریه‌ها نیز در پایان آزمایش ثبت شد.

هم‌چنین پس از بیهوش نمودن حیوانات در روز چهاردهم، ۳-۵ میلی‌لیتر خون از قلب حیوانات گرفته و به لوله‌ها منتقل شد. لوله‌ها به مدت ده دقیقه با سرعت ۲۵۰g سانتیفریژ شدند. سپس سرم از سلول‌های خون جدا شده و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای سنجش میزان گلوتاتیون (GSH) نمونه‌های پلاسما از روش Tietz استفاده شد (۱۷) و غلظت گلوتاتیون با استفاده از محلول گلوتاتیون یک میلی‌گرم بر میلی‌مول برای رسم منحنی استاندارد، محاسبه گردید.

پس از خون‌گیری مستقیم از قلب حیوان از طریق تزریق ۱۰ سی‌سی هوا به داخل قلب، حیوان را کشته و سپس از ناحیه قاعده لوب خلفی ریه راست نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید و پس از انجام پردازش بافتی، مقاطع ۵ میکرونی از نمونه‌ها تهیه شد.

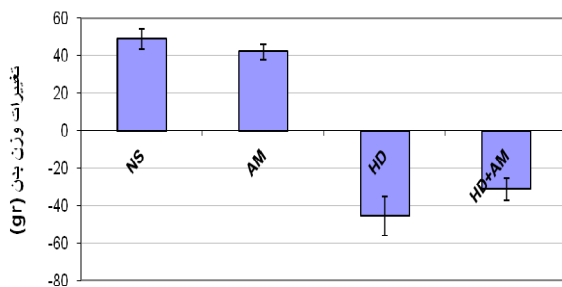
در بررسی خونریزی ریوی (Pulmonary Hemorrhage)، از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین جهت مطالعات هیستوپاتولوژی استفاده شد. بدین منظور از هماتوکسیلین آلوم هاریس (Harris Alum Hematoxylin) و محلول یک درصد ائوزین استفاده گردید. خونریزی ریوی در اسلایدهای

ریوی باعث ارتشاح سلول‌های التهابی در پلور، فضای آلوئولی و بافت‌های بینابینی می‌شود. افزایش سلول‌های التهابی در فضاهای هوایی و بافت بینابینی در طی التهاب حاد ریوی دیده می‌شود که به دنبال آن سلول‌های التهابی با آزاد کردن عوامل سمی مختلفی همانند پروتئازها و رادیکال‌های آزاد در نقاط التهاب باعث آسیب سلول‌های پارانشیم شده که متعاقب آن مرگ سلولی (آپوپتوزیس و نکروزیس) در سلول‌های پارانشیم ریوی اتفاق می‌افتد (۹، ۱۰). علی‌رغم تحقیقاتی که تاکنون صورت گرفته است، هیچ درمان پیشگیرانه‌ای برای جلوگیری از اثرات و عوارض ناشی از HD مشخص نشده است. محققین داروهای متعددی را به بوته آزمایش گذاشته‌اند تا از عوارض یا اثرات سوء HD بر بدن بکاهند. از جمله این داروها، آمیفوستین با فرمول $H_2N(CH_2)_3NH(CH_2)_2S-PO_3H_2$ است که یک داروی فسفوروئونیات و مورد تایید سازمان دارو و غذای آمریکا (FDA) می‌باشد. این دارو، محافظت‌کننده سلول در مقابل اثرات سوء شیمی‌درمانی در بیماران سرطانی و یا در برابر اشعه به عنوان Radioprotective از سلول‌های بدن است (۱۱). هم‌چنین آمیفوستین برای کاهش نوتروپنی ناشی از تب و عفونت‌هایی که ناشی از متصل شدن عامل شیمی‌درمانی به DNA سلول ایجاد می‌شود، سودمند است (۱۲، ۱۳). شواهد In vivo و In vitro نشان می‌دهند که میزان گلوتاتیون پس از استفاده از آمیفوستین و آنالوگ‌های آن نظیر DRDE-07 و DRDE-30 افزایش می‌یابد (۱۴، ۱۵). این آنالوگ‌ها اثرات حفاظتی خوبی را از خود در برابر نیتروژن موستارد نشان داده‌اند و قادرند از اثرات سوء این عامل بر سلول‌های بدن بکاهند (۱۶). هدف از مطالعه حاضر یافتن روش مناسب پیشگیری از ضایعات ریوی ناشی از HD با استفاده از اثرات حفاظتی آمیفوستین در موش‌های آلوده به HD بود.

مواد و روشها

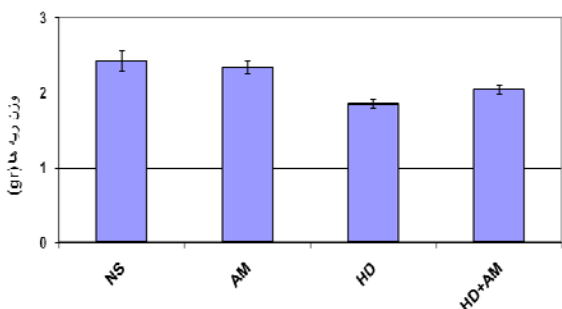
در این تحقیق تجربی، تعداد ۲۰ سر موش صحرائی نر نژاد Albino-wistar با وزن 20 ± 20 گرم از موسسه تحقیقاتی پاستور خریداری شد. HD به صورت محلول با غلظت ۰/۲۵ درصد (HD با خلوص نزدیک به ۱۰۰ درصد به میزان ۰/۲۵ میکرولیتر در ۹۹/۷۵ میکرولیتر نرمال سالین) آماده گردید. داروی AM به صورت پودر از شرکت دارویی سینا پخش تهیه و با غلظت یک درصد آماده شد. حیوانات تحت شرایط یکسان از نظر غذا، نور، آب و حرارت نگهداری شدند و سپس به

مقابل HD به میزان مختصر و غیر معنی داری نسبت به گروه HD جلوگیری کرد.



نمودار ۱- میانگین اختلاف وزن بدن بین روز صفر و چهاردهم در گروه‌های مختلف بر حسب گرم. سولفور موسستارد موجب کاهش معنی دار میانگین وزن بدن در گروه‌های خردل و درمان (HD, HD+AM) در مقایسه با گروه‌های NS و دارو AM شد.

میانگین وزن ریه موش‌ها بر حسب گرم در گروه‌های مختلف در نمودار ۲ نشان داده شده است. میزان میانگین وزن ریه‌ها در گروه‌های HD و HD+AM نسبت به گروه NS به صورت معنی داری کاهش یافته بود. در گروه درمانی HD+AM داروی AM توانست از کاهش وزن ریه‌ها در مقابل HD جلوگیری کند، هر چند این مقدار معنی دار نبود.



نمودار ۲- اختلاف میانگین وزن ریه‌ها در گروه‌های مختلف بر حسب گرم. مقایسه وزن ریه‌ها در گروه‌های NS و دارو AM اختلاف معنی داری ندارد، اما میزان کاهش وزن ریه‌ها در هر دو گروه HD و HD+AM به طور معنی داری بیشتر از گروه NS است. دارو در گروه HD+AM به صورت غیر معنی داری از کاهش وزن ریه‌ها مانع کرده است.

خونریزی از بینی و دهان، خس خس سینه و گوشه گیری حیوان در گروه HD به شکل قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه درمان شایع تر بود.

نتایج خونریزی ریوی نشان داد که خونریزی در گروه‌های NS و دارو AM وجود نداشت و در گروه HD زیاد، اما در گروه HD+AM کم دیده شد (شکل ۱).

رنگ‌آمیزی شده مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین درجه بندی خونریزی ریوی از میکروسکوپ نوری استفاده گردید. در این خصوص وجود RBC در فضای آلوئولی در سه وضعیت هیچ، کم و زیاد شدید ملاک عمل قرار گرفت.

به منظور شمارش تعداد ماستسل‌های موجود در پلور احشایی ریه برای نشان دادن ماستسل‌ها از رنگ‌آمیزی تولویدین بلو (Toluidine Blue) استفاده شد. جهت مطالعه ماستسل‌ها از هر نمونه، ۱۰ فیلد در سطحی برابر با ۱۴۱۰۰۰ میکرومتر مربع به طور تصادفی انتخاب و با استفاده از میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ و کامپیوتر و نرم افزار موتیک عکس گرفته و جمعیت ماستسل‌ها شمارش شد (۱۸).

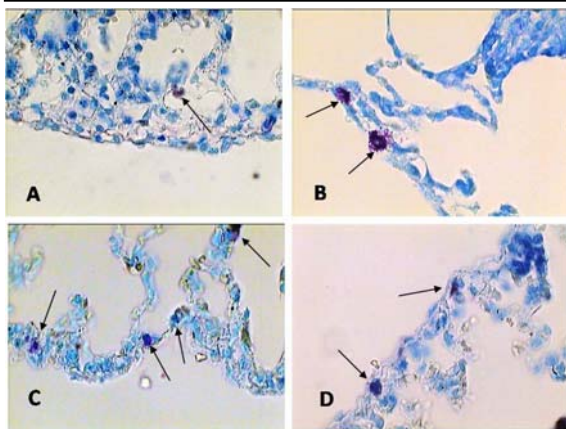
بررسی شکست DNA و مرگ سلولی (Apoptosis) پارانشیم ریه بر روی نمونه‌های رنگ آمیزی نشده صورت گرفت بدین منظور از کیت آپوپتوزیس (In situ cell death detection kit, Apotek, JAPAN) استفاده گردید. در پایان رنگ‌آمیزی TUNEL، هسته سلول‌های سالم به رنگ سبز و هسته سلول‌های آپوپتوتیک به رنگ قهوه‌ای قابل تشخیص گردیدند (۱۹).

در مطالعه سلول‌های آپوپتوتیک با استفاده از شاخص آپوپتوتیک (Apoptotic Index: AI)، تعداد سلول‌های آلوئولار نوع I سالم و آپوپتوتیک را در دیواره آلوئولی در مقاطع بافتی با بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ در تعداد ۱۰ فیلد به طور تصادفی شمارش کرده و درصد AI که شامل درصد نسبت تعداد سلول‌های آپوپتوتیک به سلول‌های سالم برای کلیه مقاطع به دست آمده و برای هر گروه ۱۰ مقطع متفاوت بررسی شد. داده‌ها به صورت میانگین و خطای معیار ارائه شده‌اند. در تحلیل اطلاعات از آزمون آماری ANOVA یک طرفه به روش Tukey و از نرم افزار Spss 13.5 استفاده گردید.

یافته‌ها

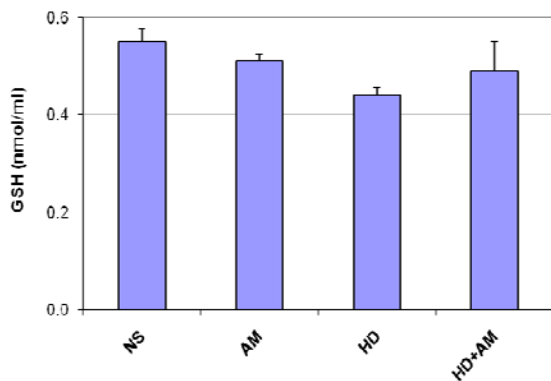
در مقایسه متغیرهای ارزیابی شده در گروه‌های NS و AM هیچ‌گونه اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

میانگین وزن بدن موش‌ها بر حسب گرم در گروه‌های مختلف در نمودار ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل بیانگر کاهش مختصر و غیر معنی دار وزن بدن در گروه AM نسبت به گروه NS بود. در مقابل، میزان کاهش وزن بدن در گروه‌های HD و HD+AM نسبت به گروه NS به صورت معنی داری بیشتر بود. در گروه درمانی HD+AM داروی AM از کاهش وزن بدن در



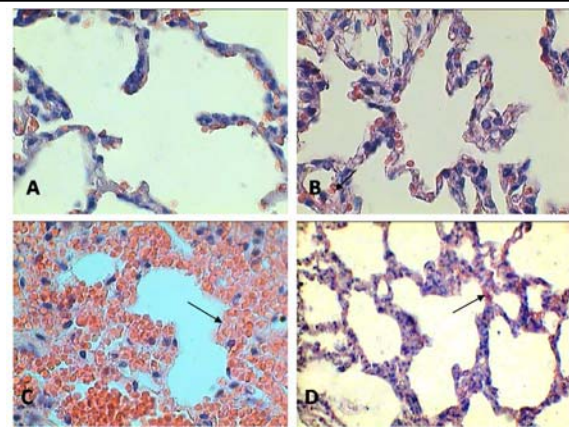
شکل ۲- تصاویر ماست سل در لایه احشایی پرده جنب در گروه‌های مختلف. سلول‌های ماست سل به رنگ آبی تا بنفش مشاهده می‌شود. همان‌طور که ملاحظه می‌شود ماست سل‌ها در گروه‌های سالیان (A)، فقط دارو (B) و درمان (B) کمتر از گروه HD (C) است. (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰، رنگ آمیزی تولوئیدین بلو)

نتایج حاصل بیانگر کاهش غیر معنی دار غلظت GSH در گروه AM نسبت به گروه NS بود. میزان غلظت GSH در گروه HD نسبت به گروه NS به طور معنی‌داری کاهش یافت. داروی AM در گروه درمانی HD+AM از کاهش غلظت GSH در مقابل HD جلوگیری نموده، گرچه این اختلاف نسبت به گروه HD معنی‌دار نبود (نمودار ۴).



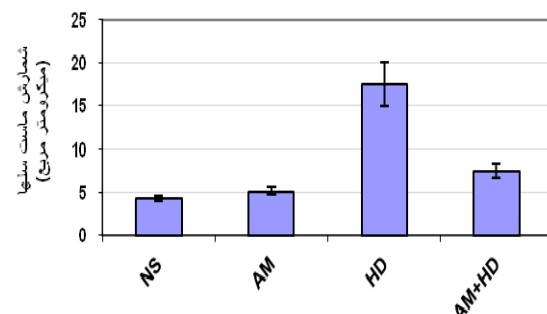
نمودار ۴ - غلظت GSH در گروه‌های مختلف. HD موجب کاهش معنی‌دار غلظت در مقایسه با گروه NS شده است. در گروه HD+AM، دارو از کاهش غلظت در مقایسه با گروه HD ممانعت کرده و با هیچ‌کدام از گروه‌های HD و NS اختلاف معنی‌دار ندارد.

تعداد سلول‌های آپوپتوتیک یا AI پارانشیم ریه در گروه دارو نسبت به گروه NS کمی افزایش داشت، اما این افزایش معنی‌دار نبود. میزان AI در گروه‌های مختلف نشان داد که HD سبب افزایش غیرمعنی‌دار AI در گروه HD در مقایسه با



شکل ۱- تصاویر خونریزی ریوی. عروق دیواره آلوئولی در گروه سالیان (A) و گروه فقط دارو (B) بدون خونریزی مشاهده می‌شود. خونریزی دیواره آلوئولی در گروه HD (C) شدید و بیش از هر سه گروه دیگر می‌باشد. در گروه درمان با AM (D) این دارو توانست به میزان واضحی از خونریزی ریوی در مقابل HD جلوگیری کرده و به میزان کم می‌باشد (بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین).

بررسی تعداد سلول‌های ماست سل در ریه در گروه‌های مختلف نشان داد که HD سبب افزایش معنی‌دار این سلول‌ها در گروه HD در مقایسه با هر سه گروه NS، AM و HD+AM گردید. میزان ماست سل‌ها در گروه دارو نسبت به گروه NS کمی افزایش داشت، اما این افزایش معنی‌دار نبود. هم‌چنین، استفاده از داروی AM بعد از مواجهه حیوان با HD به طور معنی‌داری از افزایش این سلول‌ها در ریه در مقایسه با گروه HD جلوگیری کرد ($p < 0.05$) (نمودار ۳، شکل ۲).



نمودار ۳- تعداد ماست سل‌های ریه در گروه‌های مختلف. AM در گروه دارو افزایش مختصر و غیر معنی‌داری را نسبت به گروه NS نشان می‌دهد. تعداد ماست سل‌ها در گروه HD به طور معنی‌داری نسبت به هر سه گروه دیگر افزایش داشت. داروی AM نیز در گروه HD+AM به طور معنی‌داری از افزایش تعداد ماست سل‌ها نسبت به گروه HD جلوگیری کرده است.

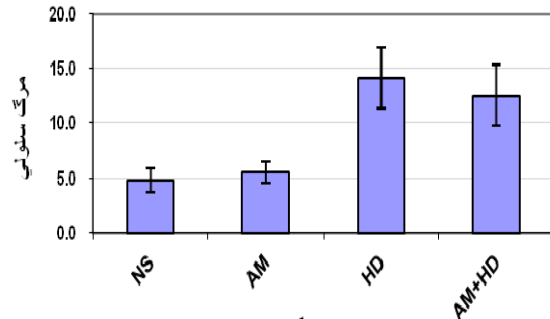
بحث

تحقیق حاضر نشان داد که سولفور موستارد سبب کاهش معنی دار وزن بدن موش‌ها می‌گردد و آمیفوستین از کاهش بیش از حد وزن بدن و ریه آنها در برابر سولفور موستارد جلوگیری می‌کند. این نتایج با یافته‌های Vijayaraghavan همکاران در سال ۲۰۰۱ که از سولفور موستارد و Sharma و همکاران در سال ۲۰۰۹ که از دوز پایین نیتروژن موستارد استفاده کردند، مطابقت دارد (۲۰، ۱۶). بدین ترتیب که آمیفوستین سبب جلوگیری از کاهش بیش از حد وزن بدن در حیوانات مورد مطالعه آنها شد. این امر می‌تواند ناشی از کاهش مصرف آب و غذا در حیوانات پس از آلودگی با سولفور موستارد باشد. گرچه مکانیسم‌هایی که باعث آسیب بدن متعاقب آلوده شدن به سولفور موستارد به طور کامل شناخته نشده است، ولی چنین به نظر می‌رسد که آمیفوستین سلول را در برابر HD محافظت کرده و سبب می‌شود از اثرات سوء آن بر بدن بکاهد، گرچه این حفاظت به طور کمال و تمام صورت نمی‌گیرد.

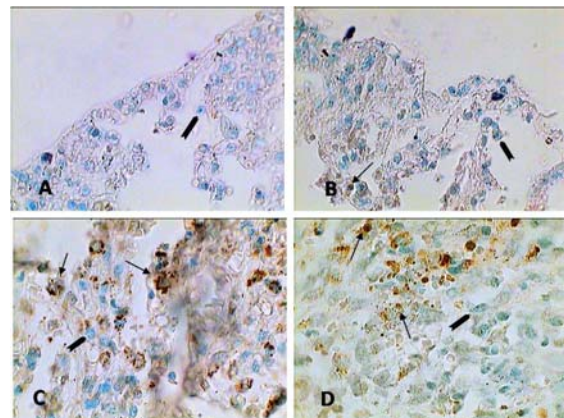
همچنین آمیفوستین سبب کاهش نسبی تعداد ماست سل‌ها در گروه AM+HD در مقایسه با گروه HD گشت. عمل حفاظتی آمیفوستین را ناشی از عامل تیول (Thiol) موجود در آمیفوستین می‌دانند که این عامل از آزاد شدن رادیکال‌های آزاد اکسیژن که متعاقب در معرض قرار گرفتن سلول با اشعه یا مواد شیمیایی از آن آزاد می‌شود، جلوگیری کرده و رادیکال‌های آزاد اکسیژن را مهار می‌کند (۲۱) و مانع از التهاب بیشتر بافت‌ها و تولید و تکثیر ماست سل‌ها می‌گردد.

این تحقیق نشان داد که غلظت GSH در گروه HD در مقایسه با گروه NS کاهش معنی‌داری داشت. آمیفوستین از کاهش بیش از حد غلظت GSH در موش‌های آلوده به HD جلوگیری نمود. این نتایج نیز با یافته‌های Sharma و همکارانش در سال ۲۰۰۹ و Vijayaraghavan و همکارانش در سال ۲۰۰۱ هم‌خوانی دارد (۱۶، ۲۰) زیرا ایشان نیز نشان دادند که هم آمیفوستین و هم آنالوگ‌های آن از کاهش GSH پس از مواجهه حیوان با نیتروژن موستارد جلوگیری می‌کند. گزارش شده است که میزان بالای GSH بدن را در مقابل آسیب‌های وارده از عوامل شیمیایی و اشعه مقاوم‌تر می‌نماید (۲۲). قابلیت حفاظت سلولی GSH به سبب گروه‌های سولفیدریل نوکلئوفیلیک آن می‌باشد که از طریق اهداء هیدروژن، کاهش پراکسیدازها و حفظ پروتئین تیول‌ها اتفاق می‌افتد. علاوه بر آن، GSH یک کوفاکتور مهم برای تعدادی

گروه‌های NS و AM گردید. همچنین استفاده از داروی AM بعد از مواجهه حیوان با HD به شکل غیر معنی‌داری از بروز مرگ سلولی پارانشیم ریه در مقایسه با گروه HD جلوگیری کرد (نمودار ۵، شکل ۳).



نمودار ۵- درصد سلول‌های آپپتوتیک (Apoptotic Index: AI) در گروه‌های مختلف. AM در گروه دارو افزایش غیر معنی‌داری را در AI نسبت به گروه NS نشان می‌دهد. میزان AI در گروه HD به طور قابل توجهی نسبت به گروه NS افزایش یافته است، اما معنی‌دار نیست. دارو در گروه HD+AM به میزان مختصر و غیر معنی‌داری از AI نسبت به گروه HD جلوگیری کرده است.



شکل ۳- تصاویر بافت ریه رنگ آمیزی شده به روش TUNEL برای تعیین مرگ سلولی آپپتوز. هسته سلول‌های سالم به رنگ آبی یا سبز (Arrow Head) و هسته سلول‌های آپپتوتیک (Arrow) به رنگ قهوه‌ای تیره نشان داده شده‌اند. سلول‌های آپپتوتیک در گروه‌های سالین (A) و فقط دارو (B) بسیار کم دیده می‌شود. در حالی که در هر دو گروه HD (C) و درمان (D) تعداد این سلول‌ها نسبت به دو گروه دیگر افزایش نشان می‌دهد. دارو در گروه درمان به میزان مختصر و غیر معنی‌داری از AI نسبت به گروه HD جلوگیری کرده است (بزرگ‌نمایی ۴۰۰، رنگ‌آمیزی TUNEL و رنگ‌آمیزی زمینه است).

(۲۴). علاوه بر آن گزارش شده که آمیفوستین می‌تواند DNA آسیب دیده را ترمیم کند که این کار را از یک سو از طریق اهداء اتم‌های هیدروژن و تنظیم دقیق بیان ژن‌هایی که ساخت پروتئین‌های ترمیم کننده DNA و از سوی دیگر مهار کننده‌های آپوپتوزیس نظیر Bcl2 و HIF-1 را بر عهده دارند، انجام می‌دهند (۲۵، ۲۶).

از این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود استفاده از آمیفوستین قبل از مواجهه موش‌های صحرایی آلوده به سولفور موستارد می‌تواند به طور معنی‌داری از افزایش ماست سل‌ها جلوگیری کرده و تا حد زیادی از افزایش التهاب و میزان آپوپتوزیس پارانشیم ریوی و همچنین از کاهش غلظت GSH سرم ممانعت به عمل آورد. گرچه تحقیقات بیشتری با استفاده از دوزهای دیگر آمیفوستین و یا استفاده از آنالوگ‌های آن مورد نیاز است.

قدردانی و تشکر

این طرح توسط مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) تصویب و مورد حمایت مالی قرار گرفت که بدین وسیله از مسئولین آن مرکز تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

از آنزیم‌های حفاظت کننده سلول نظیر گلوکوتایون پراکسیداز و گلوکوتایون S- ترانسفراز می‌باشد (۲۲). بررسی درصد سلول‌های آپوپتوتیک یا AI نشان داد که HD سبب افزایش معنی‌دار AI در گروه HD در مقایسه با گروه NS می‌شود. آمیفوستین قبل از مواجهه حیوان با HD توانست از میزان مرگ سلولی پارانشیم ریه به طور غیر معنی‌داری بکاهد. مطالعات Sharma و Vijayaraghavan و همکارانش نیز نشان داده (۱۶، ۲۰) که آمیفوستین و خصوصا آنالوگ‌های آن مثل DRDE-07 اثرات حفاظتی نسبتاً خوبی در برابر آسیب به DNA سلول در برابر عوامل موستارد دارند.

مزیت مطالعه ما در آن است که در آن مرگ سلولی یا آپوپتوزیس با شاخص آپوپتوتیک (AI) بررسی شد. در تحقیق حاضر مشاهده شد که آمیفوستین تا حدی از مرگ سلولی سلول‌های ریوی در گروه HD+AM جلوگیری می‌کند که این اثر می‌تواند ناشی از متابولیزه شدن آمیفوستین به WR1065 باشد که گروه سولفیدریل WR1065 یون‌های کرومونیوم تولید شده در اثر عوامل آلکیل کننده مثل HD را غیر فعال می‌کند و از پیوندهای عرضی DNA ممانعت به عمل می‌آورد. دیگر مکانیسم احتمالی حفاظتی آمیفوستین و آنالوگ‌های آن ترمیم شیمیایی DNA است که با انتقال اتم‌های هیدروژن (۲۳) و یا حذف اکسیژن ناشی از اکسیداسیون تیول اتفاق می‌افتد

REFERENCES

- 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.
- Kehe K, Thiermann H, Balszuweit F, Eyer F, Steinritz D, Zilker T. Acute effects of sulfur mustard injury--Munich experiences. *Toxicology* 2009; 263: 3-8.
- Kehe K, Szinicz L. Medical aspects of sulfur mustard poisoning. *Toxicology* 2005; 214: 198-209.
- Hosseini-khalili A, Haines DD, Modirian E, Soroush M, Khateri S, Joshi R, et al. Mustard gas exposure and carcinogenesis of lung. *Mutat Res* 2009; 678: 1-6.
- Das SK, Mukherjee S, Smith MG, Chatterjee D. Prophylactic protection by N-acetylcysteine against the pulmonary injury induced by 2-chloroethyl ethyl sulfide a mustard analogue. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17: 177-84.
- Arroyo CM, Burman DL, Kahler DW, Nelson MR, Corun CM, Guzman JJ, et al. TNF-alpha expression patterns as potential molecular biomarker for human skin cells exposed to vesicant chemical warfare agents: sulfur mustard (HD) and Lewisite (L). *Cell Biol Toxicol* 2004; 20: 345-59.
- Ghanei M, Harandi AA. Lung carcinogenicity of sulfur mustard. *Clin Lung Cancer* 2010; 11: 13-17.
- Gao X, Ray R, Xiao Y, Barker PE, Ray P. Inhibition of sulfur mustard-induced cytotoxicity and inflammation by the marolide antibiotic roxithromycin in human respiratory epithelial cells. *BMC Cell Biol* 2007; 8: 17.
- Pant SC, Vijayaraghavan R. Histomorphological and histochemical alterations following short-term inhalation exposure to sulfur mustard on visceral organs of mice. *Biomed Environ Sci* 1999; 12: 201-13.
- Allon N, Amir A, Manisterski E, Rabinovitz I, Dachir S, Kadar T. Inhalation exposure to sulfur mustard in the guinea pig model: clinical, biochemical and histopathological characterization of respiratory injuries. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 241: 154-62.
- Kligerman MM, Glover DJ, Turrisi AT, Norfleet AL, Yuhus JM, Coia LR, et al. Toxicity of WR-2721 administered in single and multiple doses. *Int J Radiat Oncol. Biol Phys* 1984; 10: 1773-76.

12. Pathak U, Raza SK, Kulkarni AS, Vijayaraghavan R, Kumar P, Jiaswal DK. Novel S-substituted aminoalkylamino ethanethiols a potential antidotes against sulfur mustard toxicity. *J Med Chem* 2004; 47: 3817–22.
13. Kulkarni AS, Vijayaraghavan R, Pathak U, Raza SK, Pant SC, Satish HT, et al. Evaluation of analogues of DRDE-07 as prophylactic agents against the lethality and toxicity of sulphur mustard administered through percutaneous routes. *J Appl Toxicol* 2006; 26: 115–25.
14. Issels RD, Nagele A. Promotion of cystine uptake, increase of glutathione biosynthesis, and modulation of glutathione status by S-2-(3-aminopropylamino) ethyl phosphorothioic acid (WR-2721) in Chinese hamster cells. *Cancer Res* 1989; 49: 2082–86.
15. Kumar P, Vijayaraghavan R, Kulkarni AS, Pathak U, Raza SK, Jaiswal DK. In vivo protection by amifostine and DRDE-07 against sulphur mustard toxicity. *Hum Exp Toxicol* 2002; 21: 371–76.
16. Sharma M, Vijayaraghavan R, Gautam A. DRDE-07 and its analogues as promising cytoprotectants to nitrogen mustard (HN-2) — an alkylating anticancer and chemical warfare agent. *Toxicol Lett* 2009; 188: 243–50.
17. Tietze F. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Anal Biochem* 1969; 27: 502–22.
18. Syed NN, Moiz B. Systemic mastocytosis: a rare entity. *J Pak Med Assoc* 2006; 56: 338–40.
19. Foadoddini M, Esmailidehaj M, Mehrani H, Sadraei SH, Golmanesh L, Wahhabaghahi H, et al. Pretreatment with hyperoxia reduces in vivo infarct size and cell death by apoptosis with an early and delayed phase of protection. *Eur J Cardiothor Surg* 2011; 39: 233–40.
20. Vijayaraghavan R, Kumar P, Joshi U, Raja SK, Lakshmana Rao PV, Malhotra RC, et al. Prophylactic efficacy of Amifostine and its analogues against sulphur mustard toxicity. *Toxicology* 2001; 163: 83–91.
21. Ohnishi ST, Ohnishi T, Glick JH, Schein PS. In vitro study on the antioxidant activities of amifostine (WR-2721). *Proc Am Assoc Cancer Res* 1992; 33: 419–26.
22. Navarro J, Obrador E, Pellicer JA, Aseni M, Vina J, Estrela JM. Blood glutathione as an index of radiation-induced oxidative stress in mice and humans. *Free Radic Biol Med* 1992; 22: 1203–209.
23. Willson RL. Free radical repair mechanisms and interaction of glutathione and vitamins C and E. In: Nygaard OF, Simic MG, eds. Radioprotectors and anticarcinogens. New York: Academic Press; 1983. p.1–22.
24. Purdie JW, Inhaber ER. Interaction of cultured mammalian cells with WR-2721 and its thiol WR-1065: implications for mechanisms of radioprotection. *Int J Radiat Biol* 1983; 43: 517–27.
25. Links M, Lewis C. Chemoprotectants: a review of their clinical pharmacology and therapeutic efficacy. *Drugs* 1999; 57: 293–308.
26. Spencer CM, Goa KL. Amifostine: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic as a radioprotector and cytotoxic chemoprotector. *Drugs* 1995; 50: 1001–1031.