

# بررسی اثر گازهای شیمیایی (به طور عمده موستارد) روی نوتروفیل‌های مصدومان

## شیمیایی ۱۰ سال پس از مصدومیت طی جنگ تحمیلی

### چکیده

بروز عفونت‌های مکرر، به خصوص در نواحی پوست، چشم و ریه در مجروحان شیمیایی جنگ، این فرضیه که شاید سیستم فاگوسیتوز دچار اختلال شده باشد را مطرح می‌نماید و از آن‌جا که نقص سیستم فاگوسیتوز در سوختگی‌ها به اثبات رسیده و در این مجروحان نیز سوختگی‌های سطحی وجود دارد، این فرضیه قوت می‌یابد. این مطالعه بر اساس مطلب ذکر شده شکل گرفت و هدف از آن بررسی تعداد و عمل‌کرد نوتروفیل‌ها در مصدومان شیمیایی بوده است. در این پژوهش طی آن ۳ گروه ۲۵ نفری از بیماران در ۳ درجه خفیف، متوسط و شدید همراه با یک گروه شاهد با ۱۰ عضو مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش‌های انجام شده شامل ۳ بخش بررسی مورفولوژی، CBC (Complete Blood Count) و فلوسایتومتری بود. در این مطالعه از تمام بیماران (۸۵ نفر)، ۵ میلی‌لیتر خون محیطی گرفته شد و پس از انتقال به مرکز درمانی، با تهیه فروتی، مورفولوژی سلول‌های خون محیطی با عدسی  $\times 100$  و روغن ایمرسیون مورد بررسی قرار گرفت. اندازه‌گیری شاخص‌های مربوط به WBC (White Blood Cell)، RBC (Red Blood Cell)، پلاکت و میزان هموگلوبین با استفاده از شمارش‌گر خون‌شناسی ۱۰۰۰- Sysmex K انجام شد. طی آزمایش‌های فلوسایتومتری، شاخص‌های CD۴۵، CD۱۵ و CD۱۶ بر سطح سلول‌های نوتروفیل با فنوتیپ CD۴۵/CD۱۵/CD۱۶ مورد بررسی قرار گرفتند. عمل‌کرد این سلول‌ها با استفاده از تست NBT (Nitro Blue tetrazolium) که شامل احیای رنگ نیتروبلوتترازولیوم شفاف و محلول در آب به فورمازان آبی نامحلول و رسوب آن در داخل نوتروفیل‌ها است، مورد بررسی قرار گرفت. تحقیق انجام شده از نوع توصیفی - کاربردی بود و در مجموع نتایج آماری حاصل از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و در تأیید آن شفه هیچ اختلاف معنی‌داری را در بررسی میانگین درصد و تعداد مطلق جمعیت سلولی CD۴۵<sup>+</sup>/CD۱۵<sup>+</sup>/CD۱۶<sup>+</sup> و نیز میانگین درصد آزمایش‌های NBT در گروه‌های بیمار و طبیعی نشان نداد.

دکتر ابراهیم هوشیار I

دکتر زهیر محمد حسن II

دکتر علیرضا سالک مقدم III

زهرا شاکر IV\*

دکتر معصومه ابتکار V

کلیدواژه‌ها: ۱- گاز خردل ۲- مصدومان شیمیایی ۳- نوتروفیل

### مقدمه

خردل نیتروژنی و خردل گوگردی معروف‌ترین ترکیبات صنعتی خردل هستند. در دسته‌بندی عوامل شیمیایی جنگی،

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان‌نامه دکتر ابراهیم هوشیار جهت دریافت درجه دکترای حرفه‌ای علوم آزمایشگاهی به راهنمایی دکتر زهیر محمد حسن و مشاوره دکتر علیرضا سالک مقدم، سال ۱۳۷۶.

I) دکترای علوم آزمایشگاهی

II) استاد گروه ایمنی‌شناسی، دانشگاه تربیت مدرس، بزرگراه جلال آل احمد، تهران.

III) استاد گروه ایمنی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، تهران.

IV) کارشناس ارشد ایمنی‌شناسی، مربی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ارتش، خیابان کارگر شمالی، تهران (\*مؤلف مسئول)

V) دانشیار گروه ایمنی‌شناسی، دانشگاه تربیت مدرس، بزرگراه جلال آل احمد، تهران.

فاصله زمانی حداکثر ۵۱ روز پس از آلودگی در تمام موارد مثبت بوده که نشان‌دهنده عدم اختلال عمل‌کرد فاگوسیتیک نوتروفیل‌ها بوده است (۶). دکتر زندیه مطالعه وسیعی را در مراحل مختلف روی سیستم فاگوسیتوز در مجروحان شیمیایی که ۲-۱ سال از زمان مجروح شدن آن‌ها گذشته بود، انجام داد.

در این تحقیق حرکت سلولی و فاکتورهای کموتاکسی، میزان اپسونین‌های پلاسما و سطح سلول، تست کیفی NBT و آزمایش Killing سلولی به روش حساس و دقیق رادیواکتیو انجام شد و نتایج آن طبیعی گزارش گردید (۷).

براساس تحقیق دکتر عماد و همکارانش در بیماران مبتلا به فیبروز ریوی تعداد نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بیش‌تر بود.

یافته جالب در این تحقیق ارتباط قوی بین نمونه‌های بیوپسی نمونه‌های مایع BAL بیماران مبتلا به فیبروز ریوی با تعداد سلول‌های نوتروفیل بود. به نظر می‌رسد که رادیکال‌های آزاد مشتق از اکسیژن و آزادسازی پروتئاز توسط نوتروفیل‌ها در پاتورن‌ز فیبروز ریوی ایدیوپاتیک نقش مهمی را ایفا نماید (۸).

هدف از این مطالعه بررسی تعداد سلول‌های نوتروفیل با استفاده از شاخص‌های سطحی مربوطه و عمل‌کرد این سلول‌ها با استفاده از تست احیای NBT در مصدومان شیمیایی آلوده شده با گاز خردل که در زمان مطالعه بیش از ۱۰ سال از مصدومیت آن‌ها می‌گذشت، بوده است.

### روش بررسی

آزمون آماری به کار رفته در این مطالعه توصیفی - کاربردی آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA در ابتدا بود که در صورت معنی‌دار بودن نتایج، برای یافتن عامل معنی‌دار کننده و تأیید آن از آزمون آماری شفه استفاده شد.

خردل‌ها جزء عوامل تاول‌زا محسوب می‌شوند. هر دو نوع دارای ساختمان مشابه بوده و واکنش‌های شیمیایی بین آن‌ها مشترک می‌باشد. همچنین این گازها دارای اثرات بیولوژیک یکسانی هستند.

خردل با استفاده از ۴ مکانیسم هیدرولیز (۱ و ۲)، غیرفعال کردن پلاسمینوژن و الکیلاسیون (۳) اثرات خود را بر فرایندهای بیولوژیک اعمال می‌کند. خردل‌ها، گرایش خاصی نسبت به اسیدهای نوکلئیک دارند به این ترتیب که با ایجاد یون کربونیوم، پیوندهای داخل رشته‌ای و بین رشته‌ای را تشکیل داده و آن‌ها را الکیله می‌کنند که موجب بروز اشتباهات و اختلالاتی در تکثیر DNA یا ساخت پروتئین می‌شود (۳).

به نظر می‌رسد که تغییرات ایجاد شده توسط خردل در بازهای DNA توجیه کننده خواص جهش‌زایی و سرطان‌زایی آن باشد.

تعادل ایمنی وابسته به اثرات سیستم عصبی مرکزی، توانایی سلول‌های ایمنی و تعادل اندوکراین می‌باشد. در واقع ماکروفاژها، لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها برای بسیاری از هورمون‌ها مانند کورتیکواستروئیدها، انسولین، هورمون رشد، کاتکولامین‌ها، استیل‌کولین و اندورفین‌ها دارای گیرنده هستند و هر گونه تغییر بارز در وضعیت هورمون‌ها به دنبال جراحات، ممکن است در نقص ایمنی ایجاد شده نقش داشته باشد (۴).

در مطالعه دکتر بهار و همکاران بیان شده است که فعالیت فاگوسیتوزی در مصدومان ناشی از خردل در مدت ۱ ماه بعد از مسمومیت کاهش شدید را نشان می‌دهد، به طوری که ضریب فاگوسیتوزی در برخی موارد به  $\frac{1}{5}$  حد طبیعی کاهش می‌یابد.

ضریب اپسونین کاهش کم‌تر و وضعیت بهتری نسبت به ضریب فاگوسیتوزی دارد. این ضریب‌ها ۳ ماه بعد به حالت طبیعی باز می‌گردند (۵).

دکتر کیهانی و همکارانش طی مطالعه‌ای روی ۱۲۱ مجروح ایرانی آلوده به خردل با استفاده از آزمایش کیفی NBT نشان دادند که عمل‌کرد فاگوسیت‌های نوتروفیل در

ایمرسیون مورفولوژی سلول‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

جهت تعیین میزان هموگلوبین، شمارش گلبول‌های قرمز، سفید و پلاکت‌های خون محیطی از دستگاه شمارشگر سلولی مدل Sysmex K-1000 موجود در آزمایشگاه خون‌شناسی بیمارستان شریعتی استفاده شد بدین ترتیب که  $100\lambda$  خون محیطی داخل دستگاه تزریق می‌شد و نتایج به صورت دیجیتالی ثبت می‌گردید.

- آزمایش‌های (Nitro Blue Tetrazolium)NBT - برانگیخته شده: در این بخش هدف، بررسی عمل‌کرد نوتروفیل‌ها بوده است. برای این منظور  $0/2$  میلی‌لیتر از خون کامل حاوی ضد انعقاد خوب مخلوط شده با  $0/1$  میلی‌لیتر از محلول NBT  $0/2\%$  و  $0/1$  میلی‌لیتر PMA (Phorbol Miristate Acetate) مخلوط گردید و به مدت ۲۵ دقیقه در دمای  $37$  درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از گذشت این مدت، گسترش خونی تهیه و با متانول ثابت شد.

لام‌های تهیه شده ابتدا با بزرگ‌نمایی کوچک در تراکم‌ترین قسمت گلبول‌های سفید بررسی شدند سپس با بزرگ‌نمایی  $100\times$  حداقل  $100$  نوتروفیل که حاوی رسوبات سیاه فورمازان (رنگ NBT احیا شده) بود، ثبت شد (۹).

- رنگ‌آمیزی گلبول‌های سفید خون محیطی به روش ایمونوفلئورسانس: جهت بررسی تعداد نوتروفیل‌ها از ۳ شاخص CD۴۵ (شاخص لکوسیتی)، CD۱۵ (شاخص گرانولوسیتی) و CD۱۶ (شاخص نوتروفیلی) استفاده شد (۱۰-۱۲). این مرحله به منظور آماده کردن نمونه‌های خونی جهت تزریق به فلوسایتومتر صورت گرفت.

مراحل انجام شده برای نشان‌دار کردن گلبول‌های سفید خون محیطی در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

بیماران مورد مطالعه در این تحقیق مصدومانی بودند که طی جنگ تحمیلی عراق علیه ایران در معرض گاز شیمیایی خردل قرار گرفته بودند و حدود ۱۰ سال از مصدومیت آن‌ها می‌گذشت.

این افراد با مراجعه به کلینیک مجروحان شیمیایی مورد معاینه تیم مجرب متخصصان ریه قرار گرفتند.

بیماران براساس یافته‌های بالینی فیزیکی، تست‌های اسپیرومتری و برونکوسکوپی و بر حسب شدت ضایعات به ۳ گروه خفیف، متوسط و شدید دسته‌بندی شدند.

از کل بیماران مورد معاینه، ۷۵ بیمار در ۳ گروه ۲۵ نفری قرار گرفتند و همراه با ۱۰ فرد سالم که قبلاً در جبهه جنگ حضور داشته اما شیمیایی نشده بودند (به عنوان گروه شاهد) بررسی شدند.

- نمونه‌گیری: از هر بیمار ۵ میلی‌لیتر خون محیطی گرفته شد و به شیشه حاوی ماده ضد انعقاد (Ethylene Diamide Tetra Acetic acid)EDTA منتقل گردید. سپس نمونه‌های جمع‌آوری شده جهت بررسی مورفولوژی سلول‌های خون محیطی، CBC و برانگیختن NBT و آزمایش‌های فلوسایتومتری به بخش مربوطه در مرکز تحقیقات هسته‌ای بیمارستان شریعتی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران انتقال داده شدند.

- رنگ‌آمیزی گسترش‌های خون محیطی: جهت بررسی مورفولوژی سلول‌های سفید و قرمز خون محیطی، ابتدا از نمونه خون، یک فروتی تهیه شد و پس از خشک شدن لام و ثابت کردن آن‌ها با متانول، لام‌ها به داخل سبده رنگ‌آمیزی منتقل شده و سبده در داخل بوکال حاوی رنگ گیمسا گذاشته شد.

در مرحله بعد لام‌ها به مدت ۲۰ دقیقه از سبده خارج شده و در داخل آب قرار گرفتند سپس به آرامی شسته شده و خشک شدند و در نهایت با عدسی  $100\times$  و روغن

این میانگین بیانگر افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید در گروه شدید نسبت به گروه شاهد می‌باشد.

میانگین درصد شاخص‌های CD<sub>45</sub> و CD<sub>16</sub>/CD<sub>15</sub> در حالت Gated (جمعیت لنفوسیتی)، Ungated (جمعیت لکوسیتی) در ۴ گروه خفیف، متوسط، شدید و طبیعی در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. هیچ گونه تفاوت معنی‌داری در تعداد سلول‌های مورد بحث در بین ۲ گروه بیمار و شاهد و همچنین به صورت درون گروهی در بیماران مشاهده نشد. جهت نشان دادن میزان فعالیت سلول‌های نوتروفیل از آزمایش کیفی NBT برانگیخته شده استفاده گردید. جدول شماره ۴، نتایج حاصل از درصد نوتروفیل‌های NBT مثبت در جمعیت سلول‌های سفید خون محیطی در ۴ گروه تحت مطالعه را نشان می‌دهد.

هیچ تفاوت معنی‌داری بین عمل‌کرد نوتروفیل‌ها در بین گروه‌های بیمار و شاهد دیده نشد و عمل‌کرد نوتروفیل‌ها طبیعی بود.

جدول شماره ۱- مراحل آماده سازی نمونه‌های خون محیطی جهت

تزیق به فلوسایتومتر			
ماده	لوله A	لوله B	لوله C
Neg. Control IgG(R), IgM(F)	۱۰ λ		
Anti CD ۴۵ (R)		۱۰ λ	
Anti CD ۱۵ (F)		۱۰ λ	۱۰ λ
Anti CD ۱۶ (R)			۱۰ λ
Whole Blood	۱۰۰ λ	۱۰۰ λ	۱۰۰ λ
۳۰ دقیقه انکوباسیون در ۴ درجه سانتیگراد			
Immuno Prep A	۰/۷ml	۰/۷ml	۰/۷ml
مخلوط			
Immuno Prep B	۰/۳۲ml	۰/۳۲ml	۰/۳۲ml
مخلوط			
Immuno Prep C	۰/۱۴ml	۰/۱۴ml	۰/۱۴ml
مخلوط			

### نتایج

میانگین نتایج حاصل از آزمایش‌های CBC در ۴ گروه مورد مطالعه در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

جدول شماره ۲- نتایج حاصل از آزمایش‌های CBC در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	تعداد WBC	تعداد RBC	تعداد پلاکت	میزان هموگلوبین
	میلیون/میلی متر مکعب	میلیون/میلی متر مکعب	هزار/میلی متر مکعب	گرم/دسی لیتر
گروه شاهد	۶۲۰۰ ± ۳۱۰	۵/۰۱ ± ۰/۳	۲۳۸/۷ ± ۱۱/۹۴	۱۵/۴۶ ± ۰/۸
گروه خفیف	۷۳۲۴ ± ۳۶۶/۲	۵/۱۲ ± ۰/۳	۲۴۱/۶۸ ± ۱۲/۱	۱۵/۵۵ ± ۰/۸
گروه متوسط	۷۸۷۲ ± ۳۹۳/۶	۴/۹۶ ± ۰/۲	۲۲۲/۳۲ ± ۱۱/۱	۱۵/۱۵ ± ۰/۸
گروه شدید	۸۶۰۸ ± ۴۳۰/۴	۵/۰۸ ± ۰/۳	۲۳۲/۷۶ ± ۱۱/۶	۱۵/۰۲ ± ۰/۸

جدول شماره ۳- میانگین درصد شاخص‌های CD<sub>45</sub> و CD<sub>16</sub>/CD<sub>15</sub> در گروه‌های مورد مطالعه

گروه	CD <sub>45</sub>	CD <sub>16</sub> /CD <sub>15</sub>
	جمعیت لنفوسیتی	جمعیت لنفوسیتی
گروه شاهد	-	۴۳/۷۲ ± ۷/۳۸
گروه خفیف	-	۵۱/۴۱ ± ۱۱/۹۴
گروه متوسط	-	۴۴/۶۸ ± ۱۵/۵۹
گروه شدید	-	۵۲/۰۰ ± ۱۹/۵۷

جدول شماره ۴- میانگین درصد سلول‌های نوتروفیل NBT مثبت در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌های مورد مطالعه	میانگین درصد نوتروفیل‌های NBT مثبت
گروه شاهد	۸۸/۳۰ ± ۴/۵۸
گروه خفیف	۸۵/۵۶ ± ۷/۱۵
گروه متوسط	۸۶/۲۰ ± ۶/۷۷
گروه شدید	۸۹/۵۲ ± ۵/۱۶

## بحث

تولید سولفور موستارد یا گاز خردل گوگردی، یکی از دست‌آوردهای دانش بشری است که متأسفانه به علت سمیت و خاصیت مرگ‌زایی در حملات نظامی و جنگ‌های بین‌المللی، بارها مورد استفاده قرار گرفته است.

یکی از اثرات مخرب و سوء این سم کشنده، اختلال در عمل‌کرد سیستم ایمنی، بروز بیماری‌های نقص ایمنی ثانویه و نیز بروز بدخیمی‌ها می‌باشد.

در تحقیق حاضر هدف بررسی اثرات دیررس گاز خردل روی تعداد و عمل‌کرد نوتروفیل‌ها بود. عملیات آماری توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد که پس از مثبت شدن هموژنیسیته واریانس بین گروه‌ها برای آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA جهت بررسی متغیرها استفاده گردید. در موارد دیگر آزمون غیرپارامتری کروسکال - والیس به کار گرفته شد.

در صورت معنی‌دار بودن نتایج، آزمون شفه (Scheffe) برای تعیین گروه یا گروه‌هایی که سبب ایجاد این تفاوت معنی‌دار در گروه‌ها می‌شدند مورد استفاده قرار می‌گرفت. عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار در نتایج آماری حاصل از بررسی میانگین تعداد پلاکت، گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین خون محیطی بین گروه بیماران و افراد طبیعی طی آزمایش‌های CBC (Complete Blood Count)، نشان دهنده حذف اثر موتاژنیک خردل بر اجزای نام برده از سیستم خون ساز می‌باشد.

وجود ائوزینوفیلی در تعدادی از بیماران گروه شدید که البته معنی‌دار هم نبود، در برگیرنده مورد خاصی نمی‌باشد. در مطالعات کوتاه مدت و مطالعات با مدت متوسط روی بیماران که در معرض گاز خردل قرار داشتند، گزارش‌هایی مبنی بر وجود شکل‌های نابالغ میلوئید وجود دارد اما در مطالعه حاضر که اثرات دراز مدت گاز خردل بر مصدومان شیمیایی بررسی شده است، چنین شکل‌هایی در حد قابل توجهی مشاهده نشد (۱۳).

نوتروفیل‌های رسیده (Mature) با داشتن فنوتیپ سطحی CD۴۵/CD۱۵/CD۱۶ از سایر سلول‌های موجود در

گردش خون قابل تشخیص می‌باشند. سلول‌های بالغ موجود در درون یا بیرون رگ‌های خونی آماده هستند که در صورت القا به جایگاه عفونت، التهاب، نکروز یا آلرژی مهاجرت نمایند (۱۱ و ۱۴).

وجود گرانولوسیت بیش از حد طبیعی در تعداد قابل توجهی از بیماران (۶/۵۰٪) ممکن است به دلیل پاسخ التهابی سیستم ایمنی نسبت به آزدگی‌های بافتی (Tissue injury) باشد که در این بیماران، به خصوص در بافت ریه و پوست وجود دارد یا به علت وجود عفونت‌هایی باشد که به طور مکرر در این بیماران رخ می‌دهد.

گرانولوسیت پایین‌تر از حد طبیعی در ۶/۷٪ از کل این بیماران وجود داشت.

در پاسخ به این سؤال که آیا این کمبود گرانولوسیت را می‌توان به اثر خردل نسبت داد یا خیر، تردید وجود دارد. زیرا این دسته از بیماران تعداد بسیار کمی را تشکیل می‌دادند و در افراد گروه شاهد نیز که در معرض خردل قرار نگرفته بودند این کاهش ممکن است رخ دهد. همچنین عوامل عفونی متعددی وجود دارند که قادرند تعداد گرانولوسیت‌ها را کاهش دهند.

وجود ۶/۷٪ نوتروفیل کم‌تر از حد طبیعی در جمعیت گرانولوسیتی از نظر تئوری نشان دهنده وجود گرانولوسیت‌های غیر از نوتروفیل شامل بازوفیل و ائوزینوفیل می‌باشد.

از آن جا که آنتی‌بادی مونوکلونال مورد استفاده بر ضد CD۱۶ در این مطالعه علاوه بر نوتروفیل و NK cell با بازوفیل‌ها نیز واکنش می‌دهد بنابراین آن دسته از سلول‌های موجود در جمعیت گرانولوسیتی یعنی سلول‌های با فنوتیپ CD۱۵/CD۱۶ ممکن است ائوزینوفیل‌هایی باشند که احتمالاً در گروه بیماران، بیش از حد طبیعی بوده و در نتیجه از تعداد سلول‌های CD۱۵<sup>+</sup>/CD۱۶<sup>+</sup> کاسته است.

در ۴۹/۳٪ از کل بیماران که نوتروفیل بیش از حد طبیعی در جمعیت گرانولوسیتی داشتند نیز ممکن است این حالت پاسخی از سوی سیستم ایمنی به التهاب و عفونت باشد زیرا یکی از مشکلات عزیزان جانباز در رابطه با اثرات

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمام همکارانی که در اجرای این تحقیق کمک و یاری نموده‌اند به ویژه همکار محترم خانم هایده صمیم در بخش پزشکی هسته‌ای بیمارستان شریعتی و خانم نوزری در بخش عفونی بیمارستان ساسان تشکر و قدردانی می‌گردد.

### منابع

۱- مرزبان‌راد - سعید. درمان مجروحین شیمیایی، چاپ اول، تهران، واحد انتشارات بخش فرهنگی دفتر مرکزی جهاد سازندگی، ۱۳۶۸، صفحه ۳۵.

2- Somani SM. Chemical warfare agents, 1st ed, USA, Copyright by Academic Press, 1992, PP: 27-31.

۳- آذرنیا - مهناز. اثرات گاز خردل بر سیستم خونساز، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ۱۳۶۶، صفحه: ۴.

4- Griswold JA. White Blood cells, response to burse injury, semin Nephro, 1993, 13(4): 1843-72.

۵- بهار - کمال، دیهیمی - ایرج، الیاسی - حسین. بررسی اجزاء سیستم ایمنی در مصدومین شیمیایی با سولفور موستارد، اولین کنگره بین‌المللی گازهای شیمیایی جنگی در ایران، مقاله شماره ۱۲، مشهد، خرداد ۱۳۶۷، صفحه: ۷۱-۶۳.

۶- کیهانی - عبدالحسین. بررسی ایمنی سلولی در مجروحین ایرانی آلوده به خردل، اولین کنگره بین‌المللی پزشکی گازهای شیمیایی جنگی در ایران، مقاله شماره ۶۰، مشهد، خرداد ۱۳۶۷، صفحه: ۳۳۴-۳۲۶.

۷- زندیه - طاهره. تغییرات ایمونولوژیک در مجروحین شیمیایی، مجموعه مقالات اولین کنگره بیوشیمی جمهوری

دیررس خردل گوگردی ابتدا به عفونت‌های فرصت‌طلب و مکرر می‌باشد.

در بررسی عمل‌کرد نوتروفیل‌ها باید به ۲ نکته اشاره کرد که یکی از آن‌ها آزمایش احیای NBT است. این آزمایش با وجود گزارش‌های فراوان مبنی بر نتایج مثبت و منفی کاذب در آن، از سوی سازمان بهداشت جهانی به عنوان آزمون غربالگری در افرادی که با هر نوع عامل سمی برای سیستم ایمنی (Immunotoxic) مواجه می‌شوند، قابل استفاده است (۱۵).

نکته دیگر این که نتایج حاصل از آزمایش NBT در این تحقیق با مطالعات کوتاه مدت و با مدت متوسط روی بیماران شیمیایی شده با خردل همخوانی دارد (۵، ۶ و ۷).

به عنوان یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که وجود لکوسیتوز در مصدومان شیمیایی ممکن است به علت عفونت‌های مزمن و تکرار شونده بیماران ایجاد شود. این عفونت‌ها به خصوص در بافت ریه فراوان و معمول بوده و گزارش‌های قبلی وجود عوارض دیررس گاز خردل بر ریه، مانند برونشیت مزمن، آسم برونشیک، آمفیوزم و ... را نشان داده‌اند و مطالعه حاضر نیز گزارش‌های قبلی را تأیید نموده است (۱۶).

این مطالعه نشان داد که اثرات دیررس گاز خردل (۱۰ سال پس از مصدومیت) بر سلامت نوتروفیل‌ها چه از نظر کیفی در فعالیت انفجار تنفسی و چه از نظر کمی در تعداد آن‌ها تأثیری ندارد.

با وجود این، بیماران مورد مطالعه و بسیاری از افراد که در معرض گاز خردل قرار گرفته‌اند با مشکلات متعدد و پیش‌رونده دست به گریبان هستند و سیستم ایمنی به طور مسلم دارای اختلال می‌باشد.

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، باید اختلال در سیستم ایمنی اختصاصی را توسط بررسی سالیانه مورد بحث، جستجو کرد.

۱۶- سهراب‌پور - حمید، مسعود - احمد، فرهودی - محمود، ابراهیمی فرد - محمدرضا. بررسی عوامل سیستم ایمنی هومورال در ۱۷۹ تن از جانبازان شیمیایی که بیش از ۳ سال از مصدومیت آنها گذشته است و مقایسه با گروه شاهد، سمینار اثرات جنگ‌های شیمیایی بیولوژیک بر انسان، محیط و جامعه، دانشکده فنی دانشگاه تهران، آذر ۱۳۷۱، صفحات ۴۰-۵۵.

اسلامی ایران با همکاری دانشگاه تربیت مدرس و انستیتو پاستور، چاپ بنیاد مستضعفان و جانبازان انقلاب اسلامی، اردیبهشت ۱۳۷۰، صفحه: ۱۳۷-۱۳۱.

8- Emad Ali., Rezaian Gh R. Immunoglobulins and cellular constituents of the BAL fluid of patients with sulfur mustard gas induced pulmonary fibrosis, *Chest*, 1999, 115: 1346-1351.

9- Segal AW. Nitroblue Tetrazolium test, *Lancet*, 1974, 23: 1252-74.

10- Edberg JC., Redecha PB., Salmon JE., Kimberly RP. Human FcγRIII(CD16) isoforms with distinct allelic expression, Extracellular domains and membrane linkage on PMN and NK cells, *J. Immunol*, 1989, 143: 1642-9.

11- Miller LE., Peacock JE. Manual of laboratory Immunology, Second Edition, Philadelphia, Lea & Feliger, 1991, PP: 232.

12- Ueda E., Kinoshita T., Nojima J., Inoue K., Kitani T. Different membrane anchors of FcγRIII(CD16) on K/NK Lymphocytes and neutrophils, *J. Immunol*, 1989, 143: 1274-77.

۱۳- فرهودی - محمود، طبرستانی - مجتبی، بلالی - مهدی. اختلالات سلولی srem cell و پری‌کورسورهای اریتروید در سه شهید مسموم با گاز خردل، اولین کنگره بین‌المللی پزشکی گازهای شیمیایی جنگی در ایران، مشهد. خرداد ۱۳۶۷، مقاله شماره ۱۰، صفحه: ۱۷-۲۲.

14- Coulter. Human Leukocyte differentiation Antigens, 6th ed, HLDA Workshop, Kobe, 1996, PP: 1-2.

15- World Hygiene Organization, Principles and Methods for assessing direct immunotoxicity associated with exposure to chemicals, IPCS.(International Programme on Chemical Safety), Marcel Dekker, Geneva, 1996, PP: 226-44.

## *Study of the Effects of Chemical Warfare (Mostly Sulfur Mustard) on Neutrophils in Chemical Injuries Ten Years After Exposed War*

<sup>I</sup> **E. Hooshiar, Ph.D.**    <sup>II</sup> **Z. Mohammad Hassan, Ph.D.**

<sup>III</sup> **A. Salek Moghadam, MD, Ph.D.**    <sup>IV</sup> **\*Z. Shaker, MSc**    <sup>V</sup> **M. Ebtekar, Ph.D.**

### *Abstract*

The incidence of recurrent infections in chemical injuries made us guess that phagocytic system of these patients has been disordered. On the other hand, deficiency of phagocytic function in scalds has been proved and superficial burns seen in these subjects also encouraged us to study the condition of their neutrophils. Neutrophils are one of the main members of natural immunity and have an important role in host's defense especially against bacterial infections. In this study, 75 chemical weapon victims of the war between Iran and Iraq were divided into three groups of 25 depending on the severity of the complications (mild, moderate and severe). In addition, 10 subjects who were not exposed to sulfur mustard were considered as the control group. 5ml of peripheral blood was collected from 85 subjects and analysed for complete blood count, cell morphology and flow cytometry. Cell morphology was analysed by blood smear preparation and light microscopic examination under 100X objective. Blood parameters including WBC, RBC, platelet counts and hemoglobin concentration were calculated using Sysmex K-1000. Besides, blood cells were analysed for CD45, CD15 and CD16 cell markers and the neutrophils were regarded as CD45<sup>+</sup>/CD15<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup>. The reduction of NBT and converting of clear and soluble nitro tetrazolium blue (NBT) to insoluble and precipitated formazan in cell was regarded as function of neutrophils. Statistical analysis of data was performed using analysis of variance (ANOVA), and Scheffe test. There weren't any significant differences in percentage and absolute numbers of expression of CD45<sup>+</sup>/CD15<sup>+</sup> and CD45<sup>+</sup>/CD15<sup>+</sup>/CD16<sup>+</sup> cells and mean of NBT percentage in patient and normal groups.

**Key Words: 1) Sulfur Mustard 2) Chemical victims 3) Neutrophils**

*This article is a summary of the thesis by E. Hooshiar, Ph.D. for the degree of Ph.D. in Laboratory Sciences under supervision of Z. Mohammad Hassan, Ph.D. and consultation with A. Salek Moghadam, MD, Ph.D., 1997.*

**I)** Ph.D. in Laboratory Sciences.

**II)** Professor of Immunology. Tarbiat Modarress University, Tehran, Iran.

**III)** Professor of Immunology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

**IV)** MSc in Immunology. Instructor of Artesh University of Medical Sciences and Health Services, North Kargar Ave., Tehran, Iran (\*Corresponding Author).

**V)** Associate Professor of Immunology, Tarbiat Modarress University, Tehran, Iran.