

رابطه سطح سرمی MMP-9 و مشکلات دیررس چشمی در جانبازان شیمیایی مواجهه یافته با سولفور

مستارد

طوبی غضنفری^{۱*}، رویا یارایی^۱، حسن قاسمی^۲، زهرا مصدری^۳، محمد رضا واعظ مهدوی^۴، زهیر محمد حسن^۵،

عباس فروتن^۶، محمد رضا سروش^۷، محمد مهدی نقی زاده^۸، سقراط فقیه زاده^۹

^۱ دانشیار ایمنولوژی، گروه تحقیقاتی تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

^۲ دانشیار چشم پزشکی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

^۳ پزشک عمومی، دانش‌آموخته دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

^۴ دانشیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

^۵ استاد ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

^۶ استاد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

^۷ عضو هیات علمی پژوهشکده مهندسی و علوم پزشکی جانبازان، تهران، ایران.

^۸ عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، استان فارس، ایران.

^۹ استاد آمار حیاتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول

آدرس: مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد، تهران، ایران

tghazanfari@yahoo.com , ghazanfari@shahed.ac.ir

چکیده

مقدمه: سولفور مستارد یک عامل شیمیایی جنگی است که بطور گسترده‌ای در طی جنگ عراق علیه ایران مورد استفاده قرار گرفت. یکی از عوارض دیررس عمده آن، عوارض چشمی می‌باشد. ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs) دسته‌ای از اندوپتیدازهای وابسته به روی و کلسیم هستند که در همئوستاز ماتریکس خارج سلولی و در حالات التهابی نقش‌های عمده‌ای را ایفا می‌کنند. MMP-9 یکی از این آنزیمهاست که نقش آن در بسیاری از بیماری‌های التهابی چشم به اثبات رسیده‌است. هدف این مطالعه بررسی رابطه سطح سرمی MMP-9 و مشکلات دیررس چشمی جانبازان شیمیایی مواجهه یافته با سولفور مستارد بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۷۲ نفر از جانبازان شیمیایی با مشکلات دیررس چشمی (مورد) و ۶۳ نفر از جانبازان شیمیایی بدون مشکلات چشمی (کنترل) از شهر سردشت با استفاده از روش نمونه‌گیری سیستماتیک انتخاب شدند. معاینه چشمی افراد فوق با استفاده از اسلیت لامپ انجام شد و سطح سرمی MMP-9 با روش ساندویچ الایزا اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: میانگین سطح سرمی MMP-9 در گروه مورد ۸۴۹.۳ و در گروه کنترل ۷۸۷.۰ pg/ml بود که تفاوت معنی‌دار آماری نداشت ($p=0.700$). همچنین ارتباط معنی‌داری بین سطح سرمی MMP-9 و وجود یا عدم وجود عوارض در هر یک از نواحی چشمی یافت نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: از آنجا که افزایش بیان MMP-9 در مایع اشک و محیط کشت سلول‌های اپیتلیال قرنیه و ملتحمه افراد مبتلا به بیماری‌های التهابی چشم، در مطالعات متعدد آشکار شده‌است؛ اندازه‌گیری این مارکر در نمونه‌های مذکور در جانبازان شیمیایی مبتلا به عوارض چشمی ارزشمند خواهد بود.

کلمات کلیدی: ماتریکس متالوپروتئیناز، عوارض چشمی، گاز خردل، سردست.

مقدمه

ناتوانی‌ها می‌شود (۲). مورتالیته ناشی از آن کم است ولی موربیدیتی قابل توجهی دارد و حجم زیاد مصدومین، مراکز مراقبت‌های بهداشتی را تحت فشار قرار می‌دهد (۳). اگرچه SM به عنوان یک عامل تاول‌زا طبقه‌بندی شده‌است، ولی در یک حمله حاد نه تنها پوست بلکه تمام بافت‌های اپیتلیالی را که با آنها تماس یابد، شامل چشم‌ها و راه‌های هوایی تحت تاثیر قرار می‌دهد (۴). برای مثال، تماس حاد سیستم تنفسی با غلظت‌های بالای این گاز

سولفور مستارد^۱ (SM) یک عامل شیمیایی جنگی آلکیل‌کننده‌است که بطور گسترده‌ای در طی جنگ ایران و عراق مورد استفاده قرار گرفت (۱). آنالوگ‌های سولفور و نیتروژن آن، به صورت مایعات ابروسل شده‌ای موجود هستند که در بدن مصدومین باقی می‌مانند و از طریق اثر بر پوست، چشم و سیستم تنفسی، باعث انواع

i Sulfur Mustard

سلول‌های بافت همبند و سلول‌های پیش التهابی مانند ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها ترشح می‌شوند (۱۰). مطالعات متعددی، افزایش بیان MMPها را در مایع اشک و یا سلول‌های اپیتلیال ملتحمه و قرنیه بیماران مبتلا به سندرم شوگر یا خشکی چشم و یا در مدل‌های حیوانی خشکی چشم آزمایشگاهی، نشان داده‌است (۱۸-۱۱). از طرفی، MMP عمده‌ای که در اشک بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید با بیماری فعال چشمی، تجمع می‌یابد، از نوع MMP-9 می‌باشد (۱۷).

از این رو با توجه به اینکه، پاسخ‌های التهابی سیستم ایمنی به دنبال مواجهه با گاز موستارد افزایش می‌یابد و اختلالات سیستم ایمنی روی عملکرد موضعی غده اشکی تأثیر می‌گذارد و از طرفی شناسایی بیومارکرهای التهابی قابل اندازه‌گیری با استفاده از متدهای مولکولی سریع و قابل اعتماد، برای ارزیابی، تشخیص و پیگیری‌های درمانی بیماران و نیز شناسایی داروهای ضدالتهابی جهت ضایعات موستارد، به عنوان یک نیاز احساس می‌شود (۱۹، ۲۰)، در این مطالعه بر آن شدیم تا سطح سرمی MMP-9 را در بیماران مواجهه یافته با سولفور موستارد که از عوارض مزمن و دیررس چشمی آن رنج می‌برند، بررسی و میزان آن را با افراد بدون عوارض چشمی با سابقه تماس مقایسه نماییم.

می‌تواند منجر به خشونت صدا، سرفه، تنگی نفس و سفتی قفسه سینه شود (۵). ضایعات پوستی شبیه سوختگی‌های درجه اول یا دوم هستند و معمولاً به طور خود به خودی در طی ۴ تا ۶ هفته بهبود می‌یابند (۶). چشم حساسترین بافت نسبت به اثرات SM می‌باشد. بخار یا مایع SM می‌تواند باعث درد شدید ملتحمه و اسکلراⁱ، تورمⁱⁱ، اشکریزشⁱⁱⁱ، بلفارواسپاسم^{iv} و ترس از نور^v شود؛ با این حال این اثرات ممکن است تا یک یا بیش از یک ساعت بروز نکنند (۷).

اگرچه به طور کلی، ضایعات چشمی حاد، کاملاً بهبود می‌یابند (۸) ولی SM به طور تاخیری در قرنیه و سطح چشم ضایعات تخریب‌کننده‌ای ایجاد می‌کند که منجر به اختلال پیشرونده بینایی و تحریک چشمی می‌شود (۹). ماتریکس متالوپروتئینازها^{vi} (MMPs)، خانواده خانواده بزرگی از اندوپیتیدازهای حاوی روی و وابسته به کلسیم می‌باشند که مسئول بازسازی بافت و تجزیه ماتریکس خارج سلولی^{vii} (ECM)، می‌باشند. این مولکول‌ها به وسیله هورمون‌ها، فاکتورهای رشد و سایتوکاین‌ها تنظیم می‌شوند. MMPها به وسیله انواعی از

- i Conjunctiva and Sclera
- ii Swelling
- iii Lacrimation
- iv Blepharospasm
- v Photophobia
- vi Matrix Metalloproteinases
- vii Extracellular Matrix

مواد و روش‌ها

جامعه آماری در این مطالعه مورد - شاهدی عبارت است از ۴۵۰۰ جانباز شیمیایی سردشت که در بمباران شیمیایی تیرماه ۱۳۶۶ (۲۷ ژوئیه ۱۹۸۷) با گاز موستارد مواجهه داشته‌اند (۲۱). لیست اسامی، مشخصات و آدرس این افراد در بنیاد جانبازان سردشت موجود است. پرونده‌های مربوط به مردان ۶۰-۲۰ سال از بین پرونده‌های فوق، جدا شد. تعداد پرونده‌های جدا شده، در مجموع ۱۲۰۰ پرونده بود. از این میان، تعداد ۱۳۵ نفر از جانبازان با روش نمونه‌گیری سیستماتیک از لیست اسامی انتخاب شدند.

معیارهای ورود به مطالعه عبارتند از: جنسیت مرد، سن بین ۶۰-۲۰ سال، سابقه اثبات‌شده مواجهه با گاز موستارد در طی بمباران شیمیایی شهر سردشت در تیرماه ۱۳۶۶ طبق پرونده‌های پزشکی موجود در بنیاد جانبازان.

معیارهای خروج از مطالعه برای هر دو گروه عبارتند از: عدم تمایل فرد به ادامه همکاری، ابتلا به بیماری‌های عفونی، حالات آلرژیک و فازهای تشدید بیماری در حین مطالعه، ابتلا به بیماری شناخته‌شده چشمی از قبل از مواجهه با گاز موستارد و ابتلا به بیماری سیستمیک تأییدشده قبل از مسمومیت با گاز موستارد.

پس از مراجعه افراد، مشخصات دموگرافیک، شامل سن، وضعیت تأهل، تحصیلات و شغل ثبت شد. سپس این افراد، جهت معاینه چشم به متخصص چشم

ارجاع داده شدند که طی ویزیت توسط چشم پزشک، شرح حال چشم پزشکی تهیه و نیز معاینه چشم پزشکی با اسلیت لامپ انجام شد. عوارض چشمی شناسایی شده، در پرسشنامه ثبت گردید. بر این اساس، افرادی که دچار عارضه چشمی بودند (۷۲ نفر)، بعنوان گروه مورد و افراد فاقد عوارض چشمی (۶۳ نفر) بعنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. در مرحله بعد، افراد جهت نمونه‌گیری خون به کارشناس آزمایشگاه معرفی شدند.

از هر یک از افراد ۷ سی‌سی نمونه خون محیطی در شرایط استریل گرفته شد. حدود ۲ سی‌سی از خون به لوله فاقد ماده ضد انعقاد منتقل شد. لوله‌های حاوی خون لخته، در دور ۱۵۰۰ در دقیقه (۱۵۰۰rpm)، بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم آن از خون جدا گردید. سرم نمونه‌های تهیه شده، در لوله‌های کوچک به حجم ۱۰۰ μ ل تقسیم شده و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد، به تهران منتقل گردیده و در آزمایشگاه ایمنولوژی دانشکده پزشکی شاهد در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها از نظر میزان MMP-9، با استفاده از کیت الایزا از شرکت R & D آمریکا، به روش ساندویچ الایزا بررسی شدند.

وجود یا عدم وجود مشکلات چشمی با تعداد و درصد نشان داده شده است. این مشکلات بین گروه‌های مطالعه با آزمون کای دو^۱ مقایسه شد.

i Chi-square

مورد و کنترل وجود نداشت ($p=0.060$). از نظر تحصیلات، اختلاف معنی‌دار آماری در دو گروه مورد مطالعه، یافت نشد ($p=0.580$) (جدول شماره ۱).

۳- شکایات چشمی و یافته‌های معاینه با

اسلیت لامپ

در گروه مورد (افراد مواجهه‌یافته دچار عوارض چشمی)، شایعترین شکایات چشمی به ترتیب شیوع عبارت بودند از: سوزش، خارش و قرمزی (۵۱.۴٪)، اشکریزش (۴۵.۸٪)، فتوفوبی (۴۳.۳٪) و کاهش دید (۴۰.۳٪) (جدول شماره ۴).

بر اساس یافته‌های معاینه با اسلیت لامپ، از گروه مورد، ۷ نفر (۹.۷٪)، در ناحیه پلک، ۳۴ نفر (۴۷.۲٪) در ملتحمه بولبار، ۸ نفر (۱۱.۱٪) در قرنیه، ۴۴ نفر (۶۱.۱٪) از نظر وضعیت اشک و ۱۰ نفر (۱۳.۹٪) در ناحیه لیمبوس، یافته‌های غیرطبیعی داشتند (جدول شماره ۵).

۴- مقایسه سطح سرمی MMP-9

در گروه‌های مطالعه

اندازه‌گیری سطح سرمی MMP-9 در دو گروه مورد و شاهد نشان داد که در گروه مورد، میانه سطح سرمی MMP-9، ۸۴۹.۳ و چارک اول و سوم آن به ترتیب ۵۷۲.۳ و ۱۴۸۱.۰ بوده و در گروه کنترل میانه MMP-9، ۷۸۷.۰ و چارک اول و سوم آن به ترتیب ۵۹۹.۵ و ۹۸۳.۵ بوده‌است. در دو گروه مورد مطالعه، اختلاف معنی‌دار

سطح سرمی MMP-9 به صورت میانه و چارک‌های اول و سوم نمایش داده‌شد و در گروه‌های مطالعه با آزمون ناپارامتری من-ویتنی^۱ مقایسه‌شد.

محاسبات در محیط نرم‌افزاری SPSS13

(SPSS Inc. Chicago IL) انجام گردید.

p-value کمتر از ۰.۰۵ بعنوان سطح

معنی‌داری در نظر گرفته‌شد.

یافته‌ها

۱- گروه‌های مطالعه

در این مطالعه، در مجموع ۷۲ نفر (۵۳.۳٪) از جانبازان شیمیایی شهر سردشت، در معاینه با اسلیت لامپ دچار عوارض چشمی ناشی از مواجهه با گاز موستارد بودند. ۶۳ نفر از افراد مواجهه یافته (۴۶.۷٪)، فاقد یافته غیرطبیعی در معاینه با اسلیت لامپ بودند که به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند.

۲- مشخصات دموگرافیک

میانگین و انحراف معیار سن در گروه مورد 43.6 ± 9.8 سال و در گروه کنترل 43.0 ± 9.7 سال بود. سن دو گروه مورد بررسی، از نظر آماری، اختلاف معنی‌داری نداشت ($p=0.712$). وضعیت تأهل در دو گروه، اختلاف معنی‌داری نداشت ($p=0.407$). از لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری از نظر وضعیت اشتغال بین دو گروه

ⁱ Mann – Whitney

آماري، از نظر سطح سرمی MMP-9 وجود نداشت ($p=0.700$) (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱- سایر مشخصات دموگرافیک در گروههای مورد مطالعه

معنی داری	گروه کنترل		گروه مورد			
	درصد (%)	تعداد	درصد (%)	تعداد		
۰.۴۰۷	۴.۸	۳	۸.۳	۶	مجرد	وضعیت تأهل
	۹۵.۲	۶۰	۹۱.۷	۶۶	متأهل	
۰.۵۸۰	۵۰.۸	۳۲	۵۵.۶	۴۰	زیردیپلم	تحصیلات
	۴۹.۲	۳۱	۴۴.۴	۳۲	دیپلم و بالاتر	
۰.۰۶۰	۶۰.۳	۳۸	۵۰.۰	۳۶	شاغل	وضعیت اشتغال
	۳.۲	۲	۴.۲	۳	دانشجو	
	۲۸.۶	۱۸	۲۳.۶	۱۷	بیکار	
	۶.۳	۴	۵.۶	۴	بازنشسته	
	۱.۶	۱	۱۶.۷	۱۲	حالت اشتغال	

۴- مقایسه سطح سرمی MMP-9 در گروه‌های

مطالعه

۵۷۲.۳ و ۱۴۸۱.۰ بوده و در گروه کنترل میانه MMP-9، ۷۸۷.۰ و چارک اول و سوم آن به ترتیب ۵۹۹.۵ و ۹۸۳.۵ بوده‌است. در دو گروه مورد مطالعه، اختلاف معنی‌دار آماری، از نظر سطح سرمی MMP-9 وجود نداشت ($p=0.700$) (جدول شماره ۲).

اندازه‌گیری سطح سرمی MMP-9 در دو گروه مورد و شاهد نشان داد که در گروه مورد، میانه سطح سرمی MMP-9، ۸۴۹.۳ و چارک اول و سوم آن به ترتیب

جدول شماره ۲ - مقایسه سطح سرمی MMP-9 در دو گروه‌های مطالعه

سطح سرمی MMP-9				گروه مطالعه
معنی داری	چارک سوم	چارک اول	میانه	
۰.۷۰۰	۱۴۸۱.۰	۵۷۲.۳	۸۴۹.۳	گروه مورد
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	کنترل

بررسی‌های دقیق‌تر در گروه مورد نشان داد که در گروه دچار صرفاً عارضه چشمی میانه سطح سرمی MMP-9، ۸۵۹.۳ و چارک اول و سوم آن به ترتیب ۴۰۵.۹ و ۱۲۹۳.۰ ($p=0.733$)؛ در گروه دچار عارضه چشمی و ریوی، میانه MMP-9، ۹۱۰.۵ و چارک اول و سوم آن به ترتیب ۶۸۸.۵ و ۲۰۴۰.۵ ($p=0.369$)؛ در گروه دچار عارضه چشمی و پوستی، میانه MMP-9، ۶۵۱.۰ و چارک اول و سوم آن، ۷۴۸.۵ و ۱۸۸۸.۵ ($p=0.125$) و در گروه کنترل (بدون عارضه)، میانه MMP-9، ۷۸۷.۰ و چارک اول سوم آن به ترتیب ۹۹.۵ و ۹۸.۵ بوده و در هیچ یک از گروه‌های مذکور، سطح سرمی MMP-9 با گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳- مقایسه سطح سرمی MMP-9 در زیر گروه‌های مختلف مربوط به گروه مورد

معنی داری	سطح سرمی MMP-9			تعداد (درصد)	عوارض
	چارک سوم	چارک اول	میانه		
۰.۷۷۳	۱۲۹۳.۰	۴۰۵.۹	۸۵۹.۳	(۱۶.۳)۲۲	عارضه چشمی
۰.۳۶۹	۲۰۴۰.۵	۶۸۸.۵	۹۱۰.۵	(۱۰.۴)۱۴	عارضه چشمی و ریوی
۰.۲۲۸	۸۲۵.۵	۵۷۵.۰	۶۵۱.۰	(۱۱.۱)۱۵	عارضه چشمی و پوستی
۰.۱۲۵	۱۸۸۸.۵	۷۴۸.۵	۹۷۵.۵	(۱۵.۶)۲۱	عارضه چشمی، ریوی و پوستی
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	(۴۶.۷)۶۳	بدون عارضه

که میانه MMP-9 در آنها ۸۰۷.۰ و چارک اول و سوم به ترتیب ۵۱۹.۵ و ۱۱۵۹.۵ بود و بین آنها با گروه کنترل، اختلاف معنی‌دار آماری، یافت نشد ($p=0.942$) ۲۹ نفر نیز کاهش دید را ذکر کردند که سطح سرمی MMP-9 در آنها در مقایسه با گروه کنترل، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p=0.680$). در مورد سایر شکایات چشمی نیز، بین نوع شکایت چشمی و سطح سرمی MMP-9 در مقایسه با گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری یافت نشد (جدول شماره ۴).

۵- مقایسه سطح سرمی MMP-9 بین دو گروه مورد و کنترل بر اساس شایع‌ترین شکایات چشمی
شکایات چشمی به ترتیب شیوع عبارت بودند از؛ سوزش، خارش و قرمزی، اشکریزش و کاهش دید. در گروه مورد، ۳۷ نفر از سوزش، خارش و قرمزی چشم شکایت داشتند، میانه سطح سرمی MMP-9 در این افراد، ۸۰۷.۰ و چارک اول و سوم آن به ترتیب ۵۷۵.۰ و ۱۲۳۱.۰ بود که سطح سرمی MMP-9 در این گروه با افراد گروه کنترل، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت ($p=0.539$). ۳۳ نفر از اشکریزش شکایت داشتند

جدول شماره ۴- مقایسه سطح سرمی MMP-9 بین دو گروه مورد و کنترل بر اساس شکایات چشمی

سطح سرمی MMP-9					شکایات چشمی	
معنی داری	چارک سوم	چارک اول	میانه	تعداد(%)		
۰.۹۷۲	۱۲۳۱.۰	۵۷۵.۵	۸۰۷.۰	۳۷ (۵۱.۴)	دارد	سوزش، خارش و قرمزی
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	
۰.۹۴۲	۱۱۵۹.۵	۵۱۹.۵	۸۰۷.۰	۳۳ (۴۵.۸)	دارد	اشکریزش
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	
۰.۹۶۸	۹۱۶.۵	۸۱۴.۵	۹۰۹.۵	۵ (۶.۹)	دارد	خشکی چشم
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	
۰.۳۹۹	۲۳۷۸.۰	۶۲۰.۰	۹۶۰.۰	۱۱ (۱۵.۳)	دارد	درد چشمی
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۸۷۸.۰	۶۳	کنترل	
۰.۶۸۰	۱۱۵۹.۵	۵۵۶.۵	۸۰۷.۰	۲۹ (۴۰.۳)	دارد	کاهش دید
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	
۰.۲۰۲	۲۲۵۵.۰	۹۶۰.۰	۱۶۰۷.۵	۲ (۲.۸)	دارد	احساس جسم خارجی
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۸۷۸.۰	۶۳	کنترل	
۰.۰۹۳	۲۲۳۱.۳	۷۱۳.۵	۹۵۸.۸	۲۴ (۴۳.۳)	دارد	فتوفوبی
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	

جدول شماره ۵ - مقایسه سطح سرمی MMP-9 بین دو گروه مورد و کنترل بر اساس یافته‌های معاینه با اسلیت لامپ

سطح سرمی MMP-9					یافته های چشمی	
معنی داری	چارک سوم	چارک اول	میانه	تعداد(%)		
۰.۹۳۰	۹۶۵.۰	۵۱۹.۵	۸۷۳.۰	(۹.۷)۷	غیرطبیعی	پلک
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	
۰.۲۴۶	۱۸۸۸.۵	۵۸۱.۵	۹۵۸.۸	(۴۷.۲)۳۴	غیرطبیعی	ملتحمه بولبار
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	
۰.۵۴۸	۱۳۶۳.۰	۴۷۳.۲	۷۲۶.۸	(۱۱.۱)۸	غیرطبیعی	قرنیه
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	
۰.۹۸۲	۱۰۴۷.۰	۵۶۳.۰	۸۴۹.۳	(۶۱.۱)۴۴	غیرطبیعی	اشک
	۹۸۳.۵	۵۹۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	
۰.۷۷۳	۹۵۶.۰	۶۸۸.۵	۸۲۰.۰	(۱۳.۹)۱۰	غیرطبیعی	لیمبوس
	۹۸۳.۵	۵۵۹.۵	۷۸۷.۰	۶۳	کنترل	

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر، آشکار کرد که سطح سرمی

MMP-9، در جانبازان شیمیایی مواجهه یافته با سولفورموستارد که در حال حاضر، در معاینه با اسلیت لامپ دچار عوارض چشمی ناشی از آن هستند، در مقایسه با جانبازان شیمیایی فاقد عوارض چشمی (گروه کنترل)، اختلاف معنی داری ندارد.

همچنین، این مطالعه نشان داد که سطح سرمی MMP-9 در افراد دچار عارضه چشمی در هر یک از نقاط مختلف آناتومیک چشم (شامل پلک، ملتحمه بولبار، اشک، قرنیه و لیمبوس) با افراد مواجهه یافته فاقد عوارض چشمی، اختلاف معنی دار آماری ندارد و نیز سطح سرمی

در این مطالعه که با هدف تعیین ارتباط بین عوارض چشمی دیررس ناشی از مواجهه با سولفورموستارد و سطح سرمی MMP-9 انجام شد، ۷۲ مرد با سابقه تأیید شده مواجهه با سولفورموستارد، که در حال حاضر، ۲۰ سال پس از مواجهه، بر اساس معاینه با اسلیت لامپ دچار عوارض چشمی ناشی از آن هستند؛ با ۶۳ مرد با سابقه تأیید شده مواجهه با سولفورموستارد که در معاینه با اسلیت لامپ، چشم‌های نرمال دارند (گروه کنترل)، از نظر سطح سرمی MMP-9 (به روش ساندویچ الایزا) بررسی و مقایسه شدند.

گینابرت (۲۰۰۵) نشان داد که فعالیت MMPها در مایع لاواژ برونکیال خوک‌های گینه‌ای، ۲۴ ساعت پس از تجویز داخل تراشه‌ای سولفورموستارد، افزایش یافت (۲۵،۲۷).

در سال ۲۰۰۲، سابورین و همکاران، افزایش سطوح mRNA مربوط به MMP-9 را در پوست خوک در شرایط داخل بدن، بدنبال مواجهه با سولفور موستارد، با استفاده از روش RT-PCR نشان دادند (۲۸).

اگرچه نتایج این مطالعات، همگی به نفع تنظیم مثبت MMP-9 در ضایعات ناشی از سولفور موستارد می‌باشد، ولی چندین تفاوت عمده بین آنها و مطالعه حاضر وجود دارد:

۱- مطالعات فوق، عمدتاً بر روی ضایعات حاد ناشی از سولفورموستارد انجام شده‌است، در حالی که جمعیت مورد مطالعه ما، ۲۰ سال پس از مواجهه مورد بررسی قرار گرفتند.

۲- این بررسی‌ها، غالباً بر روی مدل‌های آزمایشگاهی (محیط‌های کشت سلولی و حیوانات آزمایشگاهی) صورت گرفته‌است و مطالعه مستقیمی درباره مصدومین مواجهه با این عامل شیمیایی در ارتباط با MMP-9 وجود ندارد.

۳- در مطالعه حاضر، سطح سرمی MMP-9 اندازه‌گیری شده‌است، در حالی که اغلب مطالعات انجام‌شده، تنظیم این MMP را به صورت موضعی بررسی نموده‌اند، مثلاً در مایع لاواژ برونکیال و مایع بدست‌آمده از کشت سلول‌های پوستی. بر اساس این مطالعات، آشکار می‌شود که ضایعات

MMP-9 در افراد دچار شکایات چشمی در گروه مورد، اختلاف معنی‌داری را با افراد گروه کنترل نشان نداد.

مطالعه‌ای که سطح سرمی MMPها را در افراد دچار عوارض دیررس ناشی از مواجهه با سولفورموستارد، بررسی نماید، در داخل و خارج کشور یافت نشد، ولی گزارشات مختلفی، همراهی عوارض ناشی از مواجهه با این عامل شیمیایی را با تغییر در بیان MMPها، نشان داده‌است (۲۹-۲۲). برای مثال، اولین مطالعات انجام‌شده در این زمینه، دو مطالعه مشابه بوسیله ووسنر (۱۹۹۰) و ریکی مارو (۱۹۹۱)، بر روی پوست خرگوش و نمونه‌های پوست انسان، می‌باشد که در آنها بر اساس رهایش هیدروکسی پرولین، افزایش فعالیت MMPها به دنبال مواجهه با سولفور موستارد، نشان داده شده‌است (۲۹،۲۶).

در مطالعه‌ای که توسط شاکارجیان و همکاران در سال ۲۰۰۶، بر روی پوست گوش موش‌ها پس از مواجهه با سولفورموستارد انجام شد، ۱۶۸ ساعت (۷روز) پس از مواجهه با سولفور موستارد، سطوح نسبی mRNA مربوط به MMP-9، ۲۷ برابر و پروتئین MMP-9، ۹ برابر موش‌های کنترل و نیز فعالیت ژلاتیناز افزایش یافت (۲۲).

در مطالعه دیگری توسط پاپ و همکاران، رونویسی و ترشح MMP-9، ۲۴ ساعت پس از مواجهه با ۱-۱۰۰ میکرومول سولفورموستارد، بطور واضحی در منوسیت‌ها افزایش یافت. علاوه بر این، بیان و ترشح MMP-9، در سلول‌های ریه نیز، افزایش نشان داد (۲۳). همچنین مطالعه کالوه و همکاران در سال ۱۹۹۹، و نیز مطالعه

برای مثال، در مطالعه‌ی اسمیت^۱ و همکاران (۲۰۰۱)، بر روی بیماران آرتریت روماتوئید با یا بدون عوارض چشمی، معلوم شد که MMP‌های عمده‌ای که در اشک بیماران آرتریت روماتوئید با بیماری فعال چشمی (PUK) تجمع می‌یابند، MMP-9 و گونه‌ای از Mr 116000 می‌باشند (۱۷). همچنین، مطالعه‌ی لی و مطالعه لو در سال ۲۰۰۴، نشان داد که استرس‌های وارد شده بر سطح چشم (خشکی چشم آزمایشگاهی)، باعث تحریک فعالیت ژلاتینولیتیک در سلول‌های کشت داده‌شده اپیتلیوم قرنیه و نیز در مایع اشک می‌شود (۱۲، ۱۸).

با توجه به یافته‌های فوق و همچنین با توجه به این یافته که افزایش MMP-9 مایع اشک در هرگونه بیماری التهابی سگمان قدامی چشم، افزایش می‌یابد (۱۷)، می‌توان چنین استنباط کرد که بطور کلی هرگونه استرس واردشده به نواحی سطحی چشم از قبیل خشکی یا هر بیماری التهابی سگمان قدامی، با افزایش بیان و ترشح MMP-9 همراه هستند. بنابراین، اگر مواجهه با SM را برای بافتهای سطح چشمی، بعنوان یک استرس در نظر بگیریم، احتمالاً بررسی MMP‌ها، خصوصاً MMP-9، در نمونه‌های چشمی موضعی مثل اشک یا محیط‌های کشت سلول‌های اپیتلیال قرنیه یا ملتحمه، نتایج مرتبطی را در پی خواهد داشت و درک ما را درباره پاتوژنز این عوارض افزایش خواهد داد.

موضعی ناشی از سولفورموستارد با تنظیم مثبت MMP-9 در موضع ضایعه، همراه هستند. همانطور که قبلاً ذکر شد، تنظیم بیان MMP‌ها در چهار سطح (شامل تنظیم رونویسی از ژن، فعالسازی آنزیمی، کنترل فعالیت توسط TIMP‌ها و تنظیم ترشح بوسیله سایتوکاین‌ها و محیط خارج سلولی) رخ می‌دهد. بنابراین اختلال در هر یک از این چهار سطح تنظیمی، می‌تواند باعث اختلال در بیان موضعی MMP‌ها شود، بدون اینکه تاثیری بر سطح سرمی آن داشته باشد.

۴- مطالعه حاضر، اختصاصاً در مورد عوارض چشمی SM طراحی شده‌است، درحالی‌که در مطالعات مذکور، موردیکه تأثیر SM بر بافت‌های چشمی را بررسی کرده باشد، یافت نمی‌شود.

از ۷۲ نفر، اعضای گروه مورد، ۲۲ نفر، صرفاً دچار عوارض چشمی بودند، و بقیه بطور همزمان، علاوه بر عوارض چشمی؛ عوارض پوستی، ریوی یا هر دو را نیز داشتند، بنابراین، یکی از مواردی که نیازمند بررسی در مطالعات آینده است، اندازه‌گیری MMP-9 بطور جداگانه در هر یک از عوارض مذکور می‌باشد.

دسته دیگر مطالعات، در زمینه تغییرات موضعی MMP-9 در بیماری‌های التهابی چشم مثل عوارض چشمی آرتریت روماتوئید و در بیماران مبتلا به خشکی چشم (۱۷، ۱۱)، و یا التهاب ناشی از خشکی چشم ایجادشده به صورت تجربی (۱۸، ۱۶-۱۲) انجام شده‌است.

MMPها که ممکنست تحت تاثیر سولفورموستارد، از تعادل خارج شود، مرحله کنترل فعالیت MMPها توسط TIMPها می‌باشد. از این رو، عدم افزایش سطح سرمی MMP-9 در جانبازان شیمیایی مبتلا به عوارض چشمی، دخیل بودن MMP-9 در پاتوژنز عوارض دیررس چشمی ناشی از سولفورموستارد را رد نمی‌کند، چرا که شاید مکانیسم عمده دخیل در این زمینه، بهم خوردن تعادل بین MMP-9 و TIMP-1 به نفع فعالیت پروتئولیتیک MMP-9 در موضع التهاب باشد. از این رو، اندازه‌گیری میزان MMP-9 و مهارکننده عمده آن، TIMP-1، بصورت موضعی در ناحیه چشم (در نمونه مایع اشک و سلول‌های کشت داده شده اپیتلیوم قرنیه و ملتحمه) و نیز بررسی سطح سرمی TIMP-1، در مطالعات بعدی مربوط به جانبازان شیمیایی ارزشمند خواهد بود. همچنین، ذکر شد که فعالیت افزایش یافته MMP در التهاب، بدخیمی و بیماری‌های دژنراتیو، علاوه بر بهم خوردن تعادل موجود در نسبت MMP به TIMP، به تحریک رونویسی ژن بوسیله سایتوکاین و فاکتور رشد نیز ربط داده شده است (۳۰). با توجه به اینکه، رونویسی از ژن MMP می‌تواند بوسیله سایتوکاین‌ها و فاکتورهای رشد مختلف تنظیم شود (۳۸،۳۳،۳۰)، بنابراین، یکی از احتمالات موجود بعنوان علت اختلال در بیان موضعی MMP-9 بدنبال مواجهه با سولفورموستارد، اختلال در القا و ترشح MMP-9 بوسیله فاکتورهای رشد و سایتوکاین‌هایی مثل TNF- α ، IFN-gamma، TGF- α و EGF می‌باشد (۳۹).

از طرفی، افزایش بیان و فعالیت MMPها در بیماری‌های متعددی از جمله التهاب، سرطان و آتروسکلروز نشان داده شده است. فعالیت افزایش یافته MMP در التهاب، بدخیمی و بیماری‌های دژنراتیو به تحریک رونویسی ژن بوسیله سایتوکاین و فاکتور رشد و تحریک فعال شدن زیموژن‌ها و همچنین بهم خوردن تعادل موجود در نسبت MMP به TIMP ربط داده شده است (۳۰). در واقع، فعالیت MMPها به تعادل بین تولید و فعال سازی MMP و سطوح موضعی TIMP آزاد بستگی دارد (۳۱،۳۲).

در مطالعات متعدد، فعالیت بیش از حد MMP-9 در حالات پاتولوژیک مختلف مانند تومورها (۳۰)، مننژیتمسلی (۳۳)، IBD (۳۴)، سندرم شوگرن (۳۵) و سندرم برونشولیت اوبلیتران (۳۶،۳۷)، با غلظت‌های پایین TIMP-1 همراه بوده است. همچنین مطالعه فلگلدرا^۱ فلگلدرا^۱ (۲۰۰۵)، که در آن، افزایش MMP-9 در مایع اشک موش‌های تیپ وحشی به دنبال ایجاد خشکی چشم تجربی ایجاد شد، نشان داد که محیط سطح چشم در موش‌های دچار خشکی چشم، آنها را در مقابل اثرات تخریب سدی MMP-9 آسیب‌پذیرتر می‌سازد، که شاید علت آن، کاهش غلظت مهارکننده‌های MMP-9 (مثلاً TIMPها) باشد که بوسیله غدد اشکی به داخل لایه اشک ترشح می‌شوند (۱۶). بنابراین، یکی از سطوح تنظیمی

i Pflugfelder SC

پیشنهادات

بنابراین، اندازه گیری میزان MMP-9 در مایع اشک و محیط کشت سلول‌های اپیتلیال ملتحمه و قرنیه در مصدومین شیمیایی دچار عوارض دیررس چشمی ناشی از مواجهه با سولفور دموستارد، اندازه گیری میزان TIMP-1 و اندازه گیری میزان فاکتورهای رشد و سایتوکاین‌های پیش التهابی مانند TNF- α ، IFN-gamma، TGF- α و EGF در سرم و

مایع اشک و محیط کشت سلول‌های اپیتلیال ملتحمه و قرنیه در گروه مذکور، جهت مطالعات بعدی پیشنهاد می‌شود. همچنین، هر یک از این بررسی‌ها را می‌توان در مصدومین مبتلا به سایر عوارض دیررس SM مانند عوارض پوستی و ریوی به صورت سیستمیک و موضعی (در نمونه‌های موضعی مربوطه) نیز انجام داد.

منابع

1. Hefazi M, Attaran D, Mahmoudi M, Balali-Mood M. Late respiratory complications of mustard gas poisoning in Iranian veterans. *Inhal Toxicol*. 2005 Oct; 17(11):587-92.
2. Dacre JC, Goldman M. Toxicology and pharmacology of the chemical warfare agent sulfur mustard. *Pharmacol Rev*. 1996 Jun; 48(2): 289-326.
3. Goozner B, Lutwick LI, Bourke E. Chemical terrorism: a primer for 2002. *J Assoc Acad Minor Phys*. 2002 Jan; 13(1):14-8.
4. Papirmeister B, Feister AJ, Robinson SI, Ford RD. Medical Defense against Mustard Gas: Toxic Mechanisms and Pharmacological Implications. CRC Press .Boca Raton. FL, USA, 1991.
5. Emad A, Rezaian GR. Immunoglobulines and cellular constituents of the BAL fluid of patients with SM Gas-induced pulmonary fibrosis. *Chest*. 1999; 115:1346-1351.
6. Asted A, Darre E, Wulf HC. Mustard gas: clinical, toxicological, and mutagenic aspects based on modern experience. *Ann Plast Surg*. 1987 Oct; 19(4):330-3.
7. Medical Management Guidelines for Blister Agents:Sulfur Mustard Agent H or HD (C4H8Cl2S) and Sulfur Mustard Agent HT ; available in <http://www.atsdr.cdc.gov/MHMI/mmg165.html>
8. Safarinejad MR, Moosavi SA, Montazeri B. Ocular injuries caused by mustard gas: diagnosis, treatment and medical defense. *Mil Med*. 2001 Jan; 166(1):67-70.
9. Etezad-Razavi M, Mahmoudi M, Hefazi M, Balali-Mood M. Delayed Ocular Complications of Mustard Gas Poisoning and the Relationship with Respiratory and Cutaneous Complications. *Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2006; 34: 342-346.
10. Rajeshwar P, Verma and Crowin Hansch. Matrix Metalloproteinases (MMPs): Chemical-biological functions and (Q) SARs. *Bioorganic and medicinal chemistry*. 2007; 15: 2223-2268.
11. Solomon A , Dursun D , Liu Z , Xie Y , Macri A , Pflugfelder SC . Pro- and anti-inflammatory forms of IL-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001 Sep ;42(10): 2283-92
12. Luo L , Li DQ , Doshi A , Farley W , Corrales RM , Pflugfelder SC . Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004 Des; 45 (12):4293-4301.
13. Luo L, Li DQ, Corrales RM, Pflugfelder SC. Hyperosmolar saline is a pro-inflammatory stress on the mouse ocular surface. *Eye Contact Lens*. 2005 Sep; 31(5):186-93.
14. De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley WJ, Li DQ, Stern ME. Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res*. 2006 Sep; 83(3):526-35.
15. Corrales RM, Stern ME, de Paiva CS, Welch J, Li DQ, Pflugfelder SC .Desiccating stress stimulates expression of MMPs by the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006 Aug; 47(8):3293-302.
16. Pflugfelder SC , Farley W, Luo L , Chen LZ , de Paiva CS , Olmos LC et al . MMP-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. *Am J Pathol*. 2005 Jan; 166(1): 61-71.

17. Smith VA, Rishmawi H, Hussein H, Easty DL. Tear film MMP accumulation and corneal disease. *Br J Ophthalmol*. 2001 Feb; 85(2): 147-153.
18. Li D-Q, Chen Z, Song X J, Luo L, Pflugfelder S C. Stimulation of Matrix Metalloproteinases by Hyperosmolarity via a JNK Pathway in Human Corneal Epithelial Cells. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2004 December; 45(12): 4302-4311.
19. Tsubota K, Fujihara T, Takeuchi T. Soluble IL-2 receptors and serum autoantibodies in dry eye patients: correlation with lacrimal gland function. *Cornea*. 1997 May; 16(3):339-44.
20. Ricketts KM, Santai CT, France JA, Graziosi AM, Doyel TD, Gazaway MY, Casillas RP. Inflammatory cytokine response in SM-exposed mouse skin. *J Appl Toxicol*. 2000 Dec; 20 Suppl 1:S73-6.
21. Hashemian F, Khoshnood K, Desai MM, Falahati F, Kasl S, et al. Anxiety, Depression, and Posttraumatic Stress in Iranian Survivors of Chemical Warfare. *JAMA*. 2006; 296 (5): 560-566.
22. Shakarjian MP, Bhatt P, Gordon MK, Chang YC, Casbohm SL, Rudge TL, et al . Preferential expression of matrix metalloproteinase-9 in mouse skin after sulfur mustard exposure. *J Appl Toxicol*. 2006 May-Jun; 26(3):239-46.
23. Popp T, Egea V, Kehe K , Jochum M , Ries C . Analysis of matrix metalloproteinase expression in different types of skin and lung cells after exposure to sulfur mustard. *Toxicology*. 2007 April 20; 233(1-3):227.
24. Wormser U, Brodsky B, Reich R. Topical treatment with povidone iodine reduces nitrogen mustard-induced skin collagenolytic activity. *Arch Toxicol*. 2002 Mar; 76(2):119-21. Epub 2002 Jan 23.
25. Calvet JH , Planus E , Rouet P , Pezet S , Levame M , Lafuma C , et al . Matrix Metalloproteinase Gelatinases in Sulfur Mustard-induced Acute Airway Injury in Guinea Pigs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 1999; 276: 754-762.
26. Woessner JF Jr, Dannenberg AM Jr, Pula PJ, Selzer MG, Ruppert CL, Higuchi K, et al . Extracellular collagenase, proteoglycanase and products of their activity, released in organ culture by intact dermal inflammatory lesions produced by sulfur mustard. *J Invest Dermatol*. 1990 Dec; 95(6):717-26.
27. Guignabert C, Taysse L, Calvet JH, Planus E, Delamanche S, Galiacy S, et al. Effect of doxycycline on sulfur mustard-induced respiratory lesions in guinea pigs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2005 Jul; 289(1):L67-74. Epub 2005 Mar 18.
28. Sabourin CL, Dnne MM, Buxton KL, Casillas RP, Schlager JJ. Cytokine, Chemokine and Matrix Metalloproteinase Response after Sulfur Mustard Injury to Weanling Pig Skin. *J Biochem Mol Toxicol*. 2002; 16(6):263-72.
29. Rikimaru T, Nakamura M, Yano T, Beck G, Habicht GS, Rennie LL, et al . Mediators, initiating the inflammatory response, released in organ culture by full-thickness human skin explants exposed to the irritant, sulfur mustard. *J Invest Dermatol*. 1991 Jun; 96(6):888-97.
30. Baker EA, Leaper DJ, Hayter JP, Dickenson AJ. The Matrix Metalloproteinase System in Oral Squamous Cell Carcinoma. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2006; 44: 482-486.
31. Govinda RB. Recent Developments in the Design of Specific Matrix Metalloproteinase Inhibitors aided by Structural and Computational Studies. *Current Pharmaceutical Design*. 2005; 11: 295-322.

32. Claveau I, Mostefaoui Y, Rouabhia M. Basement Membrane Protein and Matrix Metalloproteinase Deregulation in engineered Human Oral Mucosa Following Infection with *Candida albicans*. *Matrix Biology*. 2004; 23: 477-488.
33. Friedland JF, Shaw TC, Price NM, Dayer JM. Differential Regulation of MMP-1/9 and TIMP-1 Secretion in Human Monocytic Cells in Response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Matrix Biology*. 2002; 21: 103-110.
34. Meijer MJW, Mieremet-Ooms MAC, Zon AM, Duijn W, Hogezaand RA, Sier CFM, et al. Increased Mucosal Matrix Metalloproteinase-1,-2,-3 and -9 Activity in Patients with Inflammatory Bowel Disease and the Relation with Crohn's Disease Phenotype. *Digestive and Liver Disease*. 2007; 39: 733-739.
35. Kontinen YT, Halinen S, Hanemaaijer R, Sorsa T, Hietanen J, Ceponis A, et al. Matrix Metalloproteinase (MMP)-9 Type IV Collagenase/Gelatinase Implicated in the Pathogenesis of Sjogren's syndrome. *Matrix Biology*. 1998; 17: 335-347.
36. Smith GNJr, Mickler EA, Payne KK, Lee J, Duncan M, Reynolds J, et al. Lung Transplant Metalloproteinase Levels Are Elevated Prior to Bronchiolitis Obliterans Syndrome. *American Journal of Transplantation*. 2007; 7: 1856-1861.
37. Taghavi S, Krenn K, Jaksch P, Klepetko W, Aharinejad S. Broncho-alveolar Lavage Matrix Metalloproteinases as a Sensitive Measure of Bronchiolitis Obliterans. *American Journal of Transplantation*. 2005; 5: 1548-1552.
38. Giroamo ND, Lloyd A, McCluskey P, Filipic M, Wakefiel D. Increased Expression of Matrix Metalloproteinases In Vivo In Scleritis Tissue and In Vitro In Cultured Human Scleral Fibroblasts. *The American Journal of Pathology*. 1997 Feb; 150(2):653-666.
39. Nelimarkka LO, Nikkari ST, Ravanti LS, Kahari VM, Jarvelainen HT. Collagenase-1, Stromelysin-1 and 92 kDa Gelatinase are Associated with Tumor Necrosis Factor- α Induced Morphological Change of Human Endothelial Cells in Vitro. *Matrix Biology*. 1998; 17: 293-304.