

بررسی بیان ژن NF-κB در سلولهای خون محیطی مصدومین شیمیائی سردشت، ۲۰ سال پس از مواجهه با گاز خردل

فرزاد پرویزپور^{۱*}، طوبی غضنفری^۲، حسن سلیمی^۳، سقراط فقیهزاده^۴، رویایارایی^۵، زرین شریفنیا^۶، محمدرضا سروش^۷، محمد مهدی نقی زاده^۸

^۱ کارشناس ارشد ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، ^۲ استاد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، ^۳ استاد یار ژنتیک مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه تهران، ^۴ استاد آمار حیاتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، ^۵ دانشیار ایمونولوژی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، ^۶ پژوهشگر مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، ^۷ عضو هیات علمی، پژوهشکده مهندسی و علوم پزشکی جانبازان، ^۸ عضو هیات علمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه فسا

*نویسنده پاسخگو:

چکیده

مقدمه: فاکتور رونویسی NFκB عرضه تعداد بسیار زیادی از ژن های پیش التهابی از جمله سایتوکاین ها، کموکاین ها، گیرنده های ایمنی، آنزیم ها و دیگر مولکول های پیش التهابی را برعهده دارد. فعالیت نامناسب NFκB یکی از مکانیسم های برخی از بیماری ها است به ویژه آن هایی که با التهاب یا آپوپتوزیز همراه هستند. سولفور موستارد یک عامل آلکیل کننده است که توانائی آسیب رساندن به آنزیم ها، DNA و دیگر ماکرومولکول ها را داشته و پاسخ های استرس اکسیداتیو را القاء می نماید. نتایج بدست آمده از مطالعاتی که بر روی مصدومین شیمیائی سردشت انجام شده نشان می دهد که تغییراتی در پاسخ های ایمنی و التهابی در این مصدومان رخ داده است. با توجه به اهمیت این فاکتور در تنظیم پاسخ های التهابی و ایمنی و مشکلات این مصدومین، در این تحقیق به بررسی میزان بیان NFκB پرداخته شد.

هدف: ارزیابی بیان ژن NFκB در مصدومین شیمیائی ۲۰ سال پس از مواجهه می باشد.

مواد و روش ها جامعه شامل ۱۸۹ نفر از مصدومین شیمیائی شهرستان سردشت و گروه شاهد شامل ۳۲ نفر از شهروندان شهرستان ربط بودند. از روش نمونه گیری تصادفی سیستماتیک استفاده شد. با استفاده از نرم افزار و روش های آماری SPSS و χ^2 و T-test نتایج بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت آنالیز داده های ناپارامتری از آزمون ناپارامتری من ویتنی و کروسکال والیس استفاده گردید. میزان بیان NF κ B با استفاده از تکنیک PCR در نمونه گلبول های سفید خون محیطی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته ها: بررسی میزان بیان NFκB در دو گروه کنترل و مواجهه یافته نشان داد که میانه NFκB در گروه مواجهه یافته نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. این افزایش از نظر آماری معنی دار بود ($p=0.009$).

نتیجه گیری: فاکتور NFκB در بسیاری از اعمال سلولی دخیل است و کاهش یا افزایش آن می تواند نتایج خاص خود را داشته باشد. با توجه به کاهش فاکتورهای التهابی در این مصدومان، انتظار کاهش آن می رفت که نتایج مطالعه حاضر افزایش آن را نشان داد که احتمالاً جهت جبران کاهش فاکتورهای التهابی افزایش داشته است.

کلید واژه: فاکتور رونویسی NFκB، مصدومین شیمیائی، گاز خردل، التهاب، سردشت، سایتوکاین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۵/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۳۰

مقدمه

فاکتور رونویسی NF-κB در سال ۱۹۸۶ به عنوان پروتئین متصل شونده به DNA که یک موتیف بسیار مهم را در بخش انترونیک زنجیره سبک ایمنوگلوبین κ شناسائی می کند معرفی شد (۱و۲). در پی تحقیقات بعدی روشن گردید که این فاکتور در انواع مختلفی از سلولها حضور دارد که بصورت خانواده ای از همو یا هتروداایمرهای متفاوت می باشد (Rel family) (۳). فاکتور رونویسی NFκB از نظر فیلوژنی از حشرات تا پستانداران بدون تغییر باقی مانده است که این موضوع اهمیت این فاکتور را نمایان می کند.

خانواده NFκB از پنج عضو شامل: Rel A (p65) ، Rel B ، c-Rel ، NFκB1(p50) و NFκB2(p52) تشکیل شده است. این پروتئینها در سیتوپلاسم سلول بصورت غیر فعال در اتصال با مهارکننده خود یعنی IκB باقی می مانند تا سیگنال مناسب جهت فعال شدن را دریافت نمایند (۴و۵). NFκB در پاسخ به محرکهای سلولی تحریک شده و فعال می شود. تاکنون حدود ۴۵۰ محرک، از جمله محرکهای فیزیکی، شیمیائی، فیزیولوژیک و اکسیدانها برای NFκB شناسائی شده است. همچنین مایتوزها، لیگاند رسپتورها، باکتریها، ویروسها، انگلها، قارچها و تولیدات آنها، سایتوکاینهای پیش التهابی و برخی شرایط پاتولوژیک از جمله محرکهای این فاکتور رونویسی می باشند (۶و۷).

این فاکتور رونویسی در فعالیتهای متنوع سلولی دخیل بوده و در اعمال بیولوژیک متفاوتی دارای نقش حائز اهمیتی است. از اعمال شناخته شده این فاکتور می توان به تنظیم پاسخهای ایمنی و التهابی و تکثیر سلولی و آپوپتوز اشاره نمود. فعالیت NFκB برای خون سازی و افتراق و بلوغ هر دو گروه سلولهای ایمنی یعنی سلولهای میلوئیدی و لنفوئیدی از جمله سلولهای T، B، NK cell، سلولهای دندریتیک، ماکروفاژ و نوتروفیل ضروری است (۸-۱۱). تولید IL12 توسط سلولهای دندریتیک انسانی نیازمند فعالیت NFκB است (۱۲).

فاکتور رونویسی NFκB عرضه تعداد بسیار زیادی از ژنهای پیش التهابی از جمله سایتوکاینها، کموکاینها، گیرنده های ایمنی، آنزیمها و دیگر مولکولهای پیش التهابی را برعهده دارد (۱۳). فعالیت نامناسب NFκB یکی از مکانیسمهای برخی از بیماریهاست به ویژه آنهایی که با التهاب یا آپوپتوز همراه هستند.

تغییر فعالیت NFκB در سگته مغزی، حملات شدید صرع، صدمه ترومائی به مغز، بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون، amyotrophic lateral sclerosis، تشکیل اولسراستریک، بیماری کرون، بیماری هانتینگتون، گلمرونفریت ایمنی، پسوریازیس، سوختگی ناشی از آفتاب، بیماری لایم، درماتیت تماسی، سرطان پوست، دیابت و ... دیده می شود (۲۰-۱۴).

فعالیت NFκB جزء پایه ای مکانیسم پاتولوژیک آسم و دیگر بیماریهای مزمن انسداد تنفسی و نیز فیبروز سیستیک می باشد (۲۱). NFκB از طریق مسیرهای سیگنالینگ متنوع سبب القاء بیان تعدادی از سایتوکاینهای التهابی و پیش التهابی شامل: M-CSF، GM-CSF، TNFα، TNFβ، IL1β، IL2، IL3، IL5، IL6، IL8، MIP1α، IL12، IL18 و برخی از کموکاینها از جمله MIP2، MCP1، GROα، GROβ، GROγ، RANTES، ICAM1، VCAM1، E-selectin، P-selectin، MadCam1 می شود. این فاکتور همچنین باعث القاء تولید برخی از ایمنورسپتورها، پروتئینهای فاز حاد و آنزیمهایی مانند، cyclooxygenase (COX)-2، iNOS، PLA2، lipoxigenase (5-LO) می شود (۲۴-۲۲).

دی (۲ کلرو اتیل) سولفید که سولفور موستارد یا گاز خردل نیز نامیده می شود از همان ابتدای کشف بعنوان عامل جنگی مورد سوءاستفاده قرار گرفته است. این عامل شیمیائی به کرات در جنگ جهانی اول و جنگ عراق- ایران مورد استفاده قرار گرفت (۲۷-۲۵). سولفور موستارد یک عامل آلکیل کننده است که توانائی آسیب رساندن به آنزیمها، DNA و دیگر ماکرومولکولها را داشته و پاسخهای استرس اکسیداتیو را القاء می نماید (۳۰-۲۸).

سالها پس از مواجهه با گاز خردل، مصدومین شیمیائی هنوز از عوارض این گاز رنج می برند (عوارض چشمی، پوستی، تنفسی و اختلالات سایکولوژیک) (۳۲-۳۱). نتایج بدست آمده از مطالعاتی که اخیراً بر روی مصدومین شیمیائی سردشت ۲۰ سال پس از مواجهه با گاز خردل انجام شده (مطالعه کوهرت سردشت- ایران)^۱ نشان می دهد که تغییراتی در پاسخهای ایمنی و التهابی در این مصدومان رخ داده است. سطح سرمی IL1α، IL1β، IL1Ra، TNF، IL8 و IL6 کاهش یافته است (۳۴-۳۳). همچنین مطالعه غلظت سرمی کموکاینها دچار تغییراتی شده است: MCP1/CCL2 افزایش یافته و RANTES/CCL5 و IL8/CXCL8 کاهش یافته است (۳۵). مطالعه انجام شده

^۱ - Sardasht- Iran Cohort Study

نمونه‌های تهیه‌شده بلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شدند تا به آزمایشگاه تهران منتقل گردند.

RT-PCR جهت ساخت cDNA:

با بکارگیری روش RT-PCR، نمونه‌های RNA با استفاده از پرایمر الیگو dT (Oligo-dT) به روش زیر به cDNA تبدیل شد. RNA استخراج‌شده با پرایمر Oligo-dT در یک تیوب استریل به مقادیر لازم اضافه‌گردید. تیوب مورد نظر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده‌شد و بلافاصله بر روی یخ منتقل‌گردید. مخلوط حاصل به تیوب AccPower RT PreMix (Bioneer) منتقل و با آب دوبار تقطیر^{III} DEPC به حجم ۵۰ میکرولیتر رسانده‌شد. رسوب لیوفیزه ته تیوب با ضربات آرام حل و با محلول کاملاً مخلوط گردید، و واکنش سنتز cDNA به صورت زیر انجام شد:

۱. ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد جهت سنتز cDNA

۲. ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد جهت غیرفعال کردن آنزیم Reverse Transcriptase

واکنش PCR

طراحی پرایمر جهت تکثیر ژن‌های NFκB و β-actin با استفاده از اطلاعات ثبت شده در بانک‌های ژنی مانند Genebank توالی‌های کامل هر دو ژن استخراج گردید، سپس با استفاده از نرم‌افزار Primer3 جفت پرایمرهای مورد نظر جهت تکثیر این دو ژن طراحی شد. توالی‌های مورد استفاده جهت سنتز ژن‌های مذکور در جدول ۱-۳ آورده شده‌است:

جدول ۱. توالی پرایمرها

پرایمر	توالی پرایمرها 3' 5'
۱ NFκB (forward)	CAAGGCAGCAATAGACGAG
۲ NFκB (reverse)	GTTGAGAGTTAGCAGTGAGGCA
۳ B-actin (forward)	CCT GGA GGA GAG CTA CGA G
۴ β-actin (reverse)	TTC ATG ATG GAG TTG AAG GT

جهت بررسی بیان ژن NFκB و β-actin از واکنش PCR استفاده‌شد. برنامه مورد استفاده در ادامه آورده شده‌است:

بر روی سلکتین‌های E، P و L در سرم این مصدومین نشان‌داد که E-selectin محلول افزایش‌یافته و P-selectin و L-selectin محلول کاهش یافته‌است (۳۶).

اگرچه مطالعات دیگر در مدل‌های آزمایشگاهی نشان می‌دهد که گاز خردل در کوتاه مدت باعث افزایش سایتوکاین‌های التهابی می‌شود (۳۷)، ولی مطالعات سردشت نشان‌داد که گاز خردل در درازمدت باعث کاهش این سایتوکاین‌ها در انسان شده‌است. از طرفی تاکنون مکانیسم‌های مولکولی دخیل در ایجاد این تغییرات ناشناخته باقی مانده‌است، با توجه به نقش فاکتور رونویسی NFκB در بیان این سایتوکاین‌ها، در مطالعه حاضر به بررسی بیان این فاکتور پرداخته شده‌است.

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه: جامعه آماری مورد مطالعه در این مطالعه عبارت بود از ۱۸۹ نفر از مصدومین شیمیائی شهرستان سردشت که در بمباران شیمیائی تیر ماه ۱۳۶۶ این شهرستان با گاز خردل مواجهه شده‌اند (۳۸). گروه شاهد شامل ۳۲ نفر از شهروندان شهرستان ربط بودند.

روش نمونه‌گیری: تصادفی سیستماتیک بود.

روش‌های تجزیه و تحلیل نتایج: با استفاده از نرم‌افزار و روش‌های آماری SPSS و ۲٪ و T-test نتایج بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت. همچنین جهت آنالیز داده‌های ناپارامتری از آزمون ناپارامتری من‌ویتنی^I و کروسکال‌والیس^{II} استفاده گردید.

جمع‌آوری نمونه: خون محیطی از افراد مورد مطالعه در ظرف حاوی EDTA Vacutainer tubes (BD | EDTA Biosciences) جمع‌آوری گردید.

استخراج RNA:

RNA نمونه‌های خون جمع‌آوری شده در مرحله قبل، با استفاده از کیت استخراج RNXTM-plus solution (CinnaGen) و براساس دستورالعمل شرکت استخراج شد. که شامل مراحل زیر بود:

- ۱- هموژنیزه نمودن نمونه با استفاده از محلول RNX
- ۲- استخراج RNA با استفاده از کلروفرم
- ۳- رسوب‌دادن RNA با استفاده از ایزوپروپانول
- ۴- شستشوی RNA با استفاده از اتانول ۷۵٪

^I - Mann-Witney

^{II} - Kruskal-Wallis

^{III} - diethylpyrocarbonate- distilled water

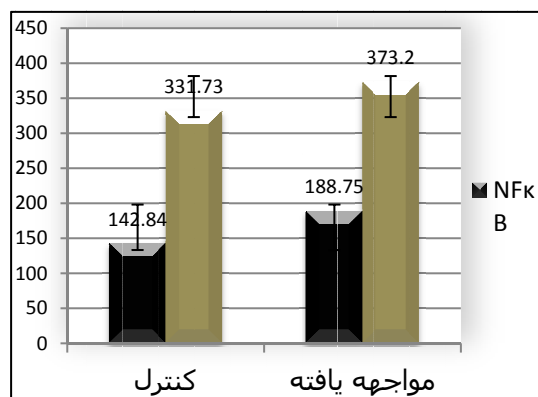
جدول ۴: اطلاعات دموگرافیک جمعیت مورد مطالعه

متغیرها	کنترل	مواجهه یافته	P-value
تعداد نمونه	۳۲	۱۸۹	
سن (میانگین $\pm$ انحراف معیار)	۱۰,۵ $\pm$ ۳۸,۸	۹,۱ $\pm$ ۴۲,۰	۰,۰۷۰
میزان تحصیلات	زیر دیپلم	٪۷۱,۹	۰,۱۳۰
	بالای دیپلم	٪۲۸,۱	
وضعیت تأهل	مجرد	٪۹,۴	۰,۸۶۵
	متاهل	٪۹۰,۶	

بررسی میزان بیان NFκB در دو گروه کنترل و مواجهه یافته نشان داد که میانه NFκB در گروه مواجهه یافته ۱۸۸,۷۵ نانوگرم در میکرولیتر و در گروه کنترل ۱۴۲,۸۴ نانوگرم در میکرولیتر بود که میزان بیان NFκB در گروه مواجهه یافته افزایش یافته بود. این افزایش از نظر آماری معنی دار بود ($p=0,009$). نتایج بدست آمده در جدول ۵ خلاصه شده است.

جدول ۵: مقایسه بیان NFκB در دو گروه (از آنجا که داده ها از توزیع نرمال پیروی نمی کنند لذا همه آنالیزها به صورت ناپارامتری انجام شد)

متغیرها	NFκB	β actin
کنترل	۳۱	۳۲
میان	۱۴۲,۸۴	۳۳۱,۷۳
Q1	۲۵,۷۴	۶۵,۸۲
Q3	۲۰۰,۰۰	۶۲۶,۰۸
مواجهه یافته	۱۸۲	۱۸۹
میان	۱۸۸,۷۵	۳۷۳,۲۰
Q1	۸۷,۹۱	۱۹۶۶,۴۴
Q3	۳۰۸,۱۴	۶۷۶,۸۲
P-value Mann-Whitney	۰,۰۰۹	۰,۲۰۴



نمودار مقایسه بیان ژن NFκB و β actin در گروه کنترل و مواجهه یافت

جدول ۲: برنامه واکنش PCR ژن β-actin

دما	زمان	سیکل
۹۴ درجه سانتیگراد	۲ دقیقه	۱ مرحله
۹۴ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	۳۰ دور
۴۹ درجه سانتیگراد	۴۰ ثانیه	۳۰ دور
۷۲ درجه سانتیگراد	۴۰ ثانیه	۳۰ دور
۷۲ درجه سانتیگراد	۵ دقیقه	۱ مرحله

جدول ۳: برنامه واکنش PCR ژن NFκB

دما	زمان	سیکل
۹۴ درجه سانتیگراد	۲ دقیقه	۱ مرحله
۹۴ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	۳۰ دور
۴۶ درجه سانتیگراد	۴۰ ثانیه	۳۰ دور
۷۲ درجه سانتیگراد	۴۰ ثانیه	۳۰ دور
۷۲ درجه سانتیگراد	۵ دقیقه	۱ مرحله

الکتروفورز و آنالیز محصولات PCR:

محصول بدست آمده از واکنش PCR بر روی ژل ۲٪ الکتروفورز شده و با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شد. ژل های تهیه شده توسط Gel documentation بررسی و عکسبرداری شد. عکس های تهیه شده جهت بررسی های بعدی ذخیره گردید. در مرحله بعد عکس ها با استفاده از نرم افزار Totallab Quant (v:11.5) آنالیز شد.

یافته ها

از مجموع ۲۲۱ نفری که در این مطالعه شرکت داشتند، ۳۲ نفر در گروه کنترل و ۱۸۹ نفر در گروه مواجهه یافته قرار گرفتند. در گروه کنترل میانگین سنی ۳۸/۸ با انحراف معیار ۱۰/۵ سال و در گروه مواجهه یافته میانگین سنی ۴۴/۰ و انحراف معیار ۹/۱ سال بود.

از نظر وضعیت تأهل، در گروه کنترل ۹۰,۶٪ از افراد متأهل و ۹,۴٪ مجرد بودند و در گروه مواجهه یافته ۹۱,۵٪ متأهل و ۸,۵٪ مجرد بودند. از لحاظ وضعیت تحصیلی، افراد زیر دیپلم در گروه کنترل ۷۱,۹٪ و بالای دیپلم ۲۸,۱٪ و در گروه مواجهه یافته این آمار به ترتیب ۵۷,۷٪ و ۴۲,۳٪ بود.

مشخصات دموگرافیک فوق از نظر آماری بین دو گروه کنترل و مواجهه یافته مورد بررسی قرار گرفت که سن ($p=0,070$)، تأهل ($p=0,865$) و میزان تحصیلات ($p=0,130$) از نظر آماری معنی دار نبودند (جدول ۴).

بحث و نتیجه‌گیری

سولفور موستارد از جمله عوامل جنگی است که در جنگ ایران و عراق بارها توسط نیروهای بعثی بر علیه نیروهای ایرانی مورد استفاده قرار گرفت. در این حملات علاوه بر نیروهای نظامی، افراد غیرنظامی و مناطق مسکونی زیادی نیز مورد حمله شیمیائی واقع گردید که شهرستان سردشت نمونه بارزی از حمله رژیم بعث به مناطق مسکونی می‌باشد. افراد مصدوم پس از مواجهه دچار عوارض متعددی گشتند که شامل عوارض زودرس که بلافاصله پس از مواجهه علائم آن‌ها ظاهر گردید و عوارض دیررس که سال‌ها بعد ظهور پیدا کردند.

عوارض بالینی خردل در این افراد طی مطالعات متعدد مورد بررسی قرار گرفته‌است. حال سال‌ها پس از مواجهه با گاز خردل، دریافت مراقبت‌های پزشکی و درمانی متعدد همچنان این مصدومان از عوارض این گاز شیمیائی رنج می‌برند. علیرغم انجام مطالعات بالینی متعدد در مورد عوارض دراز مدت گاز خردل، مطالعات مولکولی پایه در این خصوص کمتر مورد توجه قرار گرفته‌است. از جمله کارهای تحقیقاتی که بطور علمی و سیستماتیک در این زمینه انجام شده‌است طرح ملی تحقیقاتی کوهرت تاریخی سردشت می‌باشد که توسط غضنفری و همکاران در سال‌های اخیر انجام شده و همچنان ادامه دارد.

یکی از گرایش‌ات عمده خردل، اسیدهای نوکلئیک می‌باشد که این ماده شیمیائی با ایجاد پیوند داخل یک رشته یا بین دو رشته آن‌ها را آلیله می‌کند و این می‌تواند به اشتباهات و اختلالاتی در تکثیر DNA و یا سنتز پروتئین منتهی گردد (۳۹). اما آنچه در این میان حائز اهمیت است یافتن مکانیسم مولکولی اثر این ماده شیمیائی بر سیستم ایمنی این بیماران است که تاکنون ناشناخته مانده است. و همین مسأله باعث پیچیدگی درمان این بیماران شده‌است. در مطالعه حاضر به بررسی بیان فاکتور رونویسی NFκB پرداخته شده‌است. سلول‌های خون محیطی مصدومان شیمیائی جهت ارزیابی بیان ژن NFκB مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان‌داد که میزان این فاکتور در این سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته و این افزایش از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری است.

NFκB یک فاکتور رونویسی است که نقش مهمی در التهاب، پاسخ‌های ایمنی، ایمنی ذاتی و اکتسابی با تنظیم جنبه‌های مختلف تکامل و عمل سلول‌های عملگر ایفا

می‌نماید (۴۰). فاکتور NFκB در مراحل مختلف افتراق سلول‌ها و T سل‌ها از تکامل سلول نابالغ گرفته تا سلول عملگر درگیر است (۴۱ و ۴۲). این فاکتور در بسیاری از بیماری‌ها نقش داشته و میزان بیان آن تغییر می‌یابد. در تعدادی از این بیماری‌ها این فاکتور افزایش بیان دارد که، سیستمیک فیبروزیس، آسم، نارسائی مزمن قلبی، دیابت، COPD، بیماری‌های کلیوی، بیماری‌های ریوی شغلی، کانسر از جمله این موارد می‌باشند (۴۳-۴۶). اگرچه در مورد اثرات دیررس گاز خردل بر روی NFκB هیچ مطالعه‌ای انجام نگرفته‌است ولی مطالعات معدودی در مورد اثرات زودرس گاز خردل بر NFκB انجام شده‌است. Rebholz B و همکاران نشان‌دادند که میزان NFκB در سلول‌های کراتینوسایت که تحت تأثیر سولفور موستارد قرار گرفتند افزایش داشته‌است. Artatran Pal و همکاران با بررسی تأثیر سولفور موستارد بر سلول‌های پوستی موش نشان‌دادند که فاکتور NFκB در این سلول‌ها افزایش داشته‌است. این نتایج با نتایج ما همخوانی دارد (۴۷).

Vasanthi R و همکاران با مطالعه محصولات واکنش ازون و لیمونین (یک ماده شیمیائی معدنی غیراشباع موجود در پاک‌کننده‌ها، خوشبوکننده‌های هوا و صابون) در رت‌ها نشان‌دادند که تنفس این ماده محرک ریه‌ها، سبب افزایش بیان NFκB در این رت‌ها شده‌است، که دلیل آن‌را ایجاد التهاب در ریه این حیوانات عنوان می‌کند (۴۸). در این مطالعه شاید بتوان افزایش سطح NFκB را با وجود التهاب در ریه مرتبط دانست.

پورآذر و Yun YP هر یک در مطالعه خود به بررسی اثر دود آگروز موتوره‌های دیزل در رده‌های سلولی و اثر آن بر NFκB پرداختند که نتایج حاصل از این مطالعات نیز حاکی از افزایش معنی‌دار بیان NFκB بود (۵۰ و ۴۹). Damien van Berlo با مطالعه اثر کوارتز بر سلول‌های ریه نشان‌داد که کوارتز سبب ایجاد التهاب در سلول‌های اپی‌تلیال ریه شده، افزایش بیان NFκB را در پی دارد (۵۱). همچنانکه در موارد فوق‌الذکر مشاهده می‌شود تنفس یک گاز سمی سبب ایجاد التهاب و افزایش میزان NFκB شده‌است که این موارد مشابه وضعیت مصدومان شیمیائی است. شاید بتوان چنین فرض کرد که این عوامل توکسیک مسیر یا مسیرهای مشترکی را در ریه فعال نموده که پیامد آن افزایش فاکتور NFκB است.

چون در ناحیه پروموتور پروگسیمال^۱ رونویسی این ژن در در بالا دست محل رونویسی منطقه اتصال NFκB وجود دارد. بنابراین با افزایش NFκB ممکن است مقدار E سلکتین هم افزایش یابد. به عبارت دیگر افزایش E سلکتین در این افراد ممکن است ناشی از این تغییر باشد (۵۰). مولکول P سلکتین بر روی پلاکتها بیان می شود و L سلکتین بر روی لکوسیتها بیان می شود، از آنجا که میزان سلولهای خون محیطی مصدومان شیمیائی نسبت به گروه کنترل آنچنان که در مطالعه شمس و همکاران آمده است کاهش پیدا کرده بود، ممکن است کاهش این سلکتینها در سرم این افراد به این دلیل باشد (۵۵).

کاهش تعداد سلولهای خونی که در مطالعه شمس و همکاران آمده نکته قابل تأمل دیگری نیز دارد. بین سلولهای خونی و سلولهای استرومال یک سیستم فیدبک مثبت وجود دارد که NFκB آنرا تنظیم می کند، از آنجا که سلولهای خونی در این مصدومان کاهش داشته این احتمال وجود دارد که افزایش این فاکتور جهت جبران این کمبود بوده باشد (۵۶).

علاوه بر سایتوکاین و مولکولهای چسبان، NFκB نقش بسزائی در رونویسی مولکولهای کموکاین دارد. غضنفری و همکاران در مطالعه ای به بررسی سطح سرمی کموکاینهای افراد مواجهه یافته با سولفور مستارد پرداخته و آنرا با گروه کنترل مقایسه نمودند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که میزان MCP1 در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری داشته است. آنها نشان دادند که این افزایش میزان MCP1 با یافته های پاتولوژیک در افراد مواجهه یافته همخوانی دارد. فاکتور MCP1 از کموکاینهای مهم می باشد که بر روی سلولهای اندوتلیال، سلولهای عضلات صاف و ماکروفاژها در پاسخ به برخی محرکها از جمله IL1β، LDL اکسید شده و CD40L بیان می شود. مسیر اصلی بیان MCP1 توسط فاکتور رونویسی NFκB و از طریق القاء بوسیله IL1β می باشد (۵۷). از طرفی نتایج حاصل از مطالعات قبلی حاکی از کاهش میزان IL1β بوده اند، علت این اختلاف احتمالاً به این دلیل باشد که متعاقب کاهش IL1β در سرم این افراد و کاهش القا MCP1 توسط آن، مسیرهای دیگر القا تولید MCP1 فعال شده اند از جمله این مسیرها می توان به القا توسط PLD یا تیروزین کیناز

فاکتور NFκB همچنین نقش مهمی در تولید و تنظیم سایتوکاینهای التهابی دارد. در بررسی فاکتورهای التهابی در مصدومان شیمیائی سردشت میزان فاکتورهای التهابی TNF، IL1α، IL1β، IL1Rα در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشته است (۵۲). از آنجا که ژن این فاکتورها توسط NFκB رونویسی می شوند، انتظار می رفت که کاهش بیان NFκB داشته باشیم که این چنین نبود و افزایش این فاکتور را داریم که دلیل این تفاوت شاید این بوده باشد که متعاقب کاهش این فاکتورها در خون این افراد، میزان بیان NFκB جهت جبران کمبود آنها، افزایش یافته باشد.

همچنین میزان IL10 در افراد مواجهه یافته در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشته است (۵۳). چون IL10 فعالیت مهار کننده خود را از طریق مهار فاکتور NFκB اعمال می کند. بنابراین عدم افزایش IL10 با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد.

غضنفری و همکاران در مطالعه خود به بررسی سطح سرمی نیتريت اکساید (NO) و لیگاند محلول Fas (sFasL) پرداختند که نتایج نشان داد که سطح سرمی NO و sFasL در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری اختلاف معنی داری نداشتند. NO از مهارکننده های NFκB می باشد که این کار را از دو طریق انجام می دهد: ۱- با زیر واحد p50 NFκB واکنش داده و از ورود آن به داخل هسته جلوگیری می کند. ۲- افزایش IκB، که سبب مهار NFκB می شود. از آنجا که NO در این افراد افزایش نداشته است بنابراین فعالیت مهار کننده آن نیز بر فاکتور NFκB وجود نداشته و افزایش میزان NFκB دیده می شود که این نتایج با یافته های ما همخوانی دارد (۵۴).

مولکولهای چسبان از دیگر مواردی است که فاکتور NFκB در رونویسی آن نقش دارد. یارائی و همکاران با بررسی سطح سرمی سلکتینها در این مصدومان نشان دادند که L سلکتین و P سلکتین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری داشتند. همچنین میزان E سلکتین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری داشت. سلکتینها از جمله مولکولهای چسبان هستند که در واکنشهای التهابی نقش مهمی برعهده دارند. مولکول E سلکتین بر روی سلولهای اندوتلیال بیان می شود. عرضه آن نیازمند رونویسی ژن مربوطه می باشد.

^۱ - Proximal Promoter

نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد که مشکلات پوستی در افراد مواجهه یافته با سولفور موستارد نسبت به افراد گروه کنترل از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری بودند ($p=0,020$). این اختلاف بدین معنی است که یکی از اثرات گاز خردل ایجاد مشکلات پوستی در افراد مواجهه یافته می باشد. معین و همکاران در مطالعه خود که به بررسی مشکلات پوستی مصدومان پرداخته اند نشان دادند که مشکلات پوستی در مقایسه با افراد گروه کنترل دارای اختلاف معنی داری است. که با نتایج ما همخوانی دارد. از جمله مواردی که در مطالعه آن ها افزایش داشت می توان به موارد زیر اشاره نمود: خارش، زروزیس، کراتینوزیس پیلاری، هیپرپیگمانتاسیون، سوختگی و اسکار موستارد.

فاکتور NFkB در بسیاری از اعمال سلولی دخیل است و کاهش یا افزایش آن می تواند نتایج خاص خود را داشته باشد. با توجه به کاهش فاکتورهای التهابی در این مصدومان، انتظار کاهش آن می رفت که نتایج مطالعه حاضر افزایش آن را نشان داد که به احتمال زیاد جهت جبران کاهش فاکتورهای التهابی افزایش داشته است. از آنجا که این فاکتور همیشه بعنوان یک شمشیر دو لبه مطرح بوده است، این افزایش خود می تواند پیامدهائی بدنبال داشته باشد و بروز برخی از مشکلات ریوی را می توان به افزایش آن مرتبط دانست. از آنجایی که سنجش NFkB در این مطالعه به روش نیمه کمی RT-PCR بوده است انجام مطالعات دقیق تر با روش های کمی توصیه می شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه شاهد است که در مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ های ایمنی دانشگاه شاهد با حمایت مالی دانشگاه شاهد، بنیاد شهید و امور ایثارگران و پژوهشکده مهندسی و علوم پزشکی جانبازان به انجام رسیده است.

اشاره کرد. به عبارت دیگر چون مسیر القا MCP1 توسط IL1 β بدلیل کاهش میزان آن با کمبود مواجه شده است از مسیرهای دیگر جهت جبران MCP1 استفاده شده است (۵۸). بنابراین در سرم این افراد افزایش سطح MCP1 دیده می شود.

در مطالعه ما مقایسه افراد مواجهه یافته و کنترل از لحاظ مشکلات چشمی نشان داد که رابطه آماری معنی داری بین آن ها وجود ندارد ($p=0,302$). این درحالی است که در مطالعه قاسمی و همکاران ارتباط آماری معنی داری وجود داشت. اختلاف میان نتایج ما و ایشان به احتمال زیاد مربوط به تعداد کم نمونه های کنترل در مطالعه ما است (۶۰-۵۹).

نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد که مشکلات ریه در افراد مواجهه یافته با سولفور موستارد نسبت به افراد گروه کنترل از نظر آماری دارای اختلاف معنی داری بودند ($p=0,033$). این اختلاف بدین معنی است که یکی از اثرات گاز خردل ایجاد مشکلات ریوی در افراد مواجهه یافته می باشد. بررسی افراد با اسپرومتری و تعیین پارامترهای اسپرومتری در افراد مواجهه یافته و گروه کنترل و مقایسه آن ها با یکدیگر نشان داد که درصد FEV1 در آن ها از نظر آماری معنی دار می باشد. این نتایج با نتایج پورفرزام و همکاران همخوانی دارد. در مطالعه پورفرزام و همکاران علاوه بر FEV1% سایر پارامترهای اسپرومتری نیز دارای اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه کنترل هستند. از جمله: FVC%, FEV1/FVC%, PEF%, MMEF%. این نتایج با نتایج حاصل از بررسی ما همخوانی ندارد که شاید بدلیل تعداد کم نمونه ها در گروه کنترل در مطالعه ما باشد.

از عوارض خردل مشکلات ریوی و تنفسی، تغییرات پارامترهای اسپرومتری و تنگی مجاری تنفسی است که اکسیژن رسانی به بافت ها را با مشکل مواجه خواهند نمود از آنجا که کمبود اکسیژن و هیپوکسی سبب افزایش بیان NFkB می شود، احتمال دارد یکی از دلایل افزایش این فاکتور در مصدومین مورد مطالعه مشکلات تنفسی و وجود هیپوکسی باشد (۶۲ و ۶۱).

منابع

1. Sen R, Baltimore D, Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NFkB

by a post-translational mechanism, Cell, 1986; 47: 921-928.

2. Lenardo M, Pierce JW, Baltimore D. Protein-binding sites in Ig gene enhancers determine transcriptional activity and inducibility. *Science* 1987; 236:1573-1577.
3. Baldwin AS Jr., the NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights, *Annual Rev Immunology*, 1996; 14:649-83.
4. Ghosh S, May MJ, Kopp EB, NFκB and Rel proteins: evolutionary conserved mediators of the immune response, *Annu Rev Immunol*, 1998; 16: 225-260.
5. Baldwin Jr. AS, Control of oncogenesis and cancer therapy resistance by the transcription factor NFκB, *J Clin Invest*, 2001; 107: 241-246.
6. Gilmore TD, NFκB: from basic research to human disease, *Oncogene*, 2006; 51: 6679-6899.
7. Shu Fang Liu and Asrar B. Malik, NF-κB activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006; 290: L622-L645.
8. Denk A, Wirth T, and Baumann B. NF-kappa B transcription factors: critical regulators of hematopoiesis and neuronal survival. *Cytokine Growth Factor Rev* 2000; 11: 303-320.
9. Siebenlist U, Brown K, and Claudio E. Control of lymphocyte development by nuclear factor-kappaB. *Nat Rev Immunol*, 2005; 5: 435-445.
10. Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell* 2008; 132(3):344-62.
11. Kitamura H, Kanehira K, Okita K, Morimatsu M, and Saito M. MAIL, a novel nuclear I kappa B protein that potentiates LPS-induced IL-6 production. *FEBS Lett*,
12. Laderach D, Compagno D, Danos O, Vainchenker W, and Galy A. RNA interference shows critical requirement for NF-kappa B p50 in the production of IL-12 by human dendritic cells. *J Immunol*, 2003; 171: 1750-1757.
13. Banafsche R, Gunther L, Nefflen JU, Moutsiou S, Knolle PA, Herfarth C, and Klar E. NF-kappa B antisense oligonucleotides reduce leukocyte-endothelial interaction in hepatic ischemia-reperfusion. *Transplant Proc*, 2001; 33: 3726-3727.
14. Mattson MP and Cammandola S. NF-kappaB in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *J Clin Invest*, 2001; 107: 247-254.
15. Maiuri MC, De Stefano D, Mele G, Fecarotta S, Greco L, Troncone R, and Carnuccio R. Nuclear factor kappa B is activated in small intestinal mucosa of celiac patients. *J Mol Med*, 2003; 81: 373-379.
16. Kurtovic J and Segal I. Recent advances in biological therapy for inflammatory bowel disease. *Trop Gastroenterol*, 2004; 25: 9-14.
17. Lopez-Franco O, Suzuki Y, Sanjuan G, Blanco J, Hernandez-Vargas P, Yo Y, Kopp J, Egido J, and Gomez-Guerrero C. Nuclear factor-kappa B inhibitors as potential novel anti-inflammatory agents for the treatment of immune glomerulonephritis. *Am J Pathol*, 2002; 161: 1497-1505.
18. Bell S, Degitz K, Quirling M, Jilg N, Page S, and Brand K. Involvement of NF-kappaB signalling in skin physiology and disease. *Cell Signal*, 2003; 15: 1-7.
19. Lamhamedi-Cherradi SE, Zheng S, Hilliard BA, Xu L, Sun J, Alsheadat S, Liou HC, and Chen YH. Transcriptional regulation of type I diabetes by NF-kappa B. *J Immunol*, 2003; 171: 4886-4892.
20. Carolyn Culver,¹ Anders Sundqvist,² Sharon Mudie, et al, Mechanism of Hypoxia-Induced NFκB, *MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY*; Oct. 2010: 4901-4921.
21. Wright JG and Christman JW. The role of nuclear factor kappa B in the pathogenesis of pulmonary diseases: implications for therapy. *Am J Respir Med*, 2003; 2: 211-219.
22. Baeuerle PA and Baichwal VR. NF-kappa B as a frequent target for immunosuppressive and anti-inflammatory molecules. *Adv Immunol*, 1997; 65: 111-137.
23. Brown MA and Jones WK. NF-kappaB action in sepsis: the innate immune system and the heart. *Front Biosci* 9: 1201-1217, 2004.
24. Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappa B transcription factors. *Oncogene*, 1999; 18: 6853-6866.
25. Evison, D., Hincley, D., Rice, P., Regular review: chemical weapons. *Br. Med. J.* 2002; 324: 332-335.
26. Ghasemi H, Ghazanfari T, Yaraee R, Soroush MR, et al. Systemic and ocular complications of sulfur mustard: a panoramic review. *Toxin Rev* 2009; 28(1): 14-23.
27. 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.
28. Lodhi, I.J., Sweeney, J.F., Clift, R.E., Hinshaw, D.B., Nuclear dependence of sulfur mustard-mediated cell death. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2001; 170: 69-77.
29. Jafari M, Ghanei M. Evaluation of plasma, erythrocytes, and bronchoalveolar lavage fluid antioxidant defense system in sulfur mustard-injured patients, *Clin Toxicol (Phila)*. 2010 Mar; 48(3):184-92.
30. Miroslav Pohanka*, Jakub Sobotka, Rudolf Stetina, Sulfur mustard induced oxidative stress and its alteration by epigallocatechin gallate, *Toxicol Lett*. 2010 Dec 21.
31. Ghasemi H, Ghazanfari T, Yaraee R, Soroush MR, Ghassemi-Broumand M, Pourfarzam S, et al. Systemic and ocular complications of sulfur mustard: a panoramic review. *Toxin Rev* 2009; 28(1):14-23.
32. 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* Nov 2003; 45(11):1136-43.

33. Yaraee R, Ghazanfari T, Ebtekar M, et al, Alterations in serum levels of inflammatory cytokines (TNF, IL-1alpha, IL-1beta and IL-1Ra) 20 years after sulfur mustard exposure: Sardasht-Iran cohort study, *Int Immunopharmacol.* 2009 Dec;9(13-14):1466-70.
34. Pourfarzam S, Ghazanfari T, Yaraee R, et al, Serum levels of IL-8 and IL-6 in the long term pulmonary complications induced by sulfur mustard: Sardasht-Iran Cohort Study, *Int Immunopharmacol.* 2009 Dec;9(13-14):1482-8.
35. Ghazanfari T, Yaraee R, Kariminia A, et al, Alterations in the serum levels of chemokines 20 years after sulfur mustard exposure: Sardasht-Iran Cohort Study, *Int Immunopharmacol.* 2009 Dec;9(13-14):1471-6.
36. Yaraee R, Ghazanfari T, Faghihzadeh S, et al, Alterations in the serum levels of soluble L, P and E-selectin 20 years after sulfur mustard exposure: Sardasht-Iran Cohort Study, *Int Immunopharmacol.* 2009 Dec; 9(13-14):1477-81.
37. 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 Jan; 27(1):38-43.
38. 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.
39. Fox M., Scott D. The genetic toxicology of nitrogen and sulphur mustard. *Mutat Res.* 1980 Mar; 75(2):131-168.
40. Shih V. F., Tsui R., Caldwell A., Hoffmann A. A single NFkappaB system for both canonical and non-canonical signaling. *Cell Res.* 2011 Jan;21(1):86-102.
41. Kim D., Xu M., Nie L., Peng X. C., Jimi E., Voll R. E., et al. Helix-loop-helix proteins regulate pre-TCR and TCR signaling through modulation of Rel/NF-kappaB activities. *Immunity.* 2002 Jan;16(1):9-21.
42. King L. B., Norvell A., Monroe J. G. Antigen receptor-induced signal transduction imbalances associated with the negative selection of immature B cells. *J Immunol.* 1999 Mar 1;162(5):2655-2662.
43. Rottner M., Kunzelmann C., Mergey M., Freyssinet J. M., Martinez M. C. Exaggerated apoptosis and NF-kappaB activation in pancreatic and tracheal cystic fibrosis cells. *FASEB J.* 2007 Sep;21(11):2939-2948.
44. Wright J. G., Christman J. W. The role of nuclear factor kappa B in the pathogenesis of pulmonary diseases: implications for therapy. *Am J Respir Med.* 2003;2(3):211-219.
45. Seo G. S. [The role of NF-kappaB in colon cancer]. *Korean J Gastroenterol.* 2011 Jan 25;57(1):3-7.
46. Luedde T., Schwabe R. F. NF-kappaB in the liver--linking injury, fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011 Feb;8(2):108-118.
47. Pal A., Tewari-Singh N., Gu M., Agarwal C., Huang J., Day B. J., et al. Sulfur mustard analog induces oxidative stress and activates signaling cascades in the skin of SKH-1 hairless mice. *Free Radic Biol Med.* 2009 Dec 1;47(11):1640-1651.
48. Sunil V. R., Laumbach R. J., Patel K. J., Turpin B. J., Lim H. J., Kipen H. M., et al. Pulmonary effects of inhaled limonene ozone reaction products in elderly rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2007 Jul 15;222(2):211-220.
49. Pourazar J., Mudway I. S., Samet J. M., Helleday R., Blomberg A., Wilson S. J., et al. Diesel exhaust activates redox-sensitive transcription factors and kinases in human airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005 Nov;289(5):L724-730.
50. Yun Y. P., Joo J. D., Lee J. Y., Nam H. Y., Kim Y. H., Lee K. H., et al. Induction of nuclear factor-kappaB activation through TAK1 and NIK by diesel exhaust particles in L2 cell lines. *Toxicol Lett.* 2005 Feb 15;155(2):337-342.
51. Lim J. H., Um H. J., Park J. W., Lee I. K., Kwon T. K. Interleukin-1beta promotes the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in human aorta smooth muscle cells via multiple signaling pathways. *Exp Mol Med.* 2009 Oct 31;41(10):757-764.
52. Yaraee R., Ghazanfari T., Ebtekar M., Ardestani S. K., Rezaei A., Kariminia A., et al. Alterations in serum levels of inflammatory cytokines (TNF, IL-1alpha, IL-1beta and IL-1Ra) 20 years after sulfur mustard exposure: Sardasht-Iran cohort study. *Int Immunopharmacol.* 2009 Dec;9(13-14):1466-1470.
53. Ghazanfari Z, Ghazanfari T, Kermani-Jalilvand A, Yaraee R, Vaez-Mahdavi MR, Foroutan A, et al. Association of physical activity and IL-10 levels 20 years after sulfur mustard, *Int Immunopharmacol.* 2009 Dec;9(13-14): 1504–1508
54. Ghazanfari T., Sharifnia Z., Yaraee R., Pourfarzam S., Kariminia A., Mahlojirad M., et al. Serum soluble Fas ligand and nitric oxide in long-term pulmonary complications induced by sulfur mustard: Sardasht-Iran Cohort Study. *Int Immunopharmacol.* 2009 Dec;9(13-14):1489-1493.
55. Yaraee R., Ghazanfari T., Faghihzadeh S., Mostafaie A., Soroush M. R., Inai K., et al. Alterations in the serum levels of soluble L, P and E-selectin 20 years after sulfur mustard exposure: Sardasht-Iran Cohort Study. *Int Immunopharmacol.* 2009 Dec;9(13-14):1477-1481.
56. Matthew S, Sankar G NFkB in immunology, *Cell Research*, 2011; 21:223-244
57. Ghasemi H., Ghazanfari T., Yaraee R., Ghassemi-Broumand M., Soroush M. R., Pourfarzam S., et al. Evaluation of relationship between the serum levels of inflammatory mediators and ocular injuries induced by sulfur mustard: Sardasht-Iran Cohort Study. *Int*

- Immunopharmacol. 2009 Dec;9(13-14):1494-1498.
58. Ruiz-Ortega M., Lorenzo O., Egidio J. Angiotensin III increases MCP-1 and activates NF-kappaB and AP-1 in cultured mesangial and mononuclear cells. *Kidney Int.* 2000 Jun;57(6):2285-2298.
59. Ghasemi H., Ghazanfari T., Ghassemi-Broumand M., Javadi M. A., Babaei M., Soroush M. R., et al. Long-term ocular consequences of sulfur mustard in seriously eye-injured war veterans. *Cutan Ocul Toxicol.* 2009;28(2):71-77.
60. Driessler F., Venstrom K., Sabat R., Asadullah K., Schottelius A. J. Molecular mechanisms of interleukin-10-mediated inhibition of NF-kappaB activity: a role for p50. *Clin Exp Immunol.* 2004 Jan;135(1):64-73.
61. Cormac T. Taylor, Interdependent roles for hypoxia inducible factor and nuclear factor-κB in hypoxic inflammation, *J Physiol* 586.17 (2008) pp 4055–4059
62. G'orlach Agnes, bonello Steve, The cross-talk between NF-κB and HIF-1: further evidence for a significant Liaison, *Biochem. J.* 2008; 412: e17–e19