

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

فرزاد پرویزپور<sup>۱\*</sup>، طوبی غضنفری<sup>۲</sup>، حسن سلیمی<sup>۳</sup>، سقراط فقیهزاده<sup>۴</sup>، رویا یارابی<sup>۵</sup>، زرین شریف‌نیا<sup>۶</sup>، محمدرضا سروش<sup>۷</sup>، محمد‌مهدی نقی‌زاده<sup>۸</sup>

<sup>۱</sup>کارشناس ارشد ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، <sup>۲</sup>استاد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، <sup>۳</sup>استاد پارتنریک مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه تهران، <sup>۴</sup>استاد آمار حیاتی، دانشگاه پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، <sup>۵</sup>دانشیار ایمونولوژی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، <sup>۶</sup>پژوهشگر مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های ایمنی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، <sup>۷</sup>عضو هیات علمی، پژوهشکده مهندسی و علوم پزشکی جانبازان، <sup>۸</sup>عضو هیات علمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه فسا

\*نویسنده پاسخگو:

چکیده

مقدمه: فاکتور رونویسی NF-κB عرضه تعداد بسیار زیادی از ژن‌های پیش‌التهابی از جمله سایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها، گیرنده‌های ایمنی، آنزیم‌ها و دیگر مولکول‌های پیش‌التهابی را بر عهده دارد. فعالیت نامناسب NF-κB یکی از مکانیسم‌های برخی از بیماری‌های است به ویژه آن‌هایی که با التهاب یا آپوپتوزیز همراه هستند. سولفور موستارد یک عامل آلکیله‌کننده است که توانایی آسیب‌رساندن به آنزیم‌ها، DNA و دیگر ماقرومولکول‌ها را داشته و پاسخ‌های استرس اکسیداتیو را القاء می‌نماید. نتایج بدست آمده از مطالعاتی که بر روی مصدومین شیمیائی سردشت انجام شده نشان می‌دهد که تغییراتی در پاسخ‌های ایمنی و التهابی در این مصدومان رخ داده است. با توجه به اهمیت این فاکتور در تنظیم پاسخ‌های التهابی و ایمنی و مشکلات این مصدومین، در این تحقیق به بررسی میزان بیان NF-κB پرداخته شد.

هدف: ارزیابی بیان ژن NF-κB در مصدومین شیمیائی ۲۰ سال پس از مواجهه می‌باشد.

مواد و روش‌ها جامعه شامل ۱۸۹ نفر از مصدومین شیمیائی شهرستان سردشت و گروه شاهد شامل ۳۲ نفر از شهروندان شهرستان ربط بودند. از روش نمونه‌گیری تصادفی سیستماتیک استفاده شد. با استفاده از نرم‌افزار و روش‌های آماری SPSS و T-test و  $\chi^2$  نتایج بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت آنالیز داده‌های ناپارامتری از آزمون ناپارامتری من‌ویتنی و کروسکال‌والیس استفاده گردید. میزان بیان NF-κB با استفاده از تکنیک PCR در نمونه گلوبول‌های سفید خون محیطی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: بررسی میزان بیان NF-κB در دو گروه کنترل و مواجهه یافته نشان داد که میانه NF-κB در گروه مواجهه یافته نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود ( $p=0,009$ ).

نتیجه‌گیری: فاکتور NF-κB در بسیاری از اعمال سلولی دخیل است و کاهش یا افزایش آن می‌تواند نتایج خاص خود را داشته باشد. با توجه به کاهش فاکتورهای التهابی در این مصدومان، انتظار کاهش آن می‌رفت که نتایج مطالعه حاضر افزایش آن را نشان داد که احتمالاً جهت جبران کاهش فاکتورهای التهابی افزایش داشته است.

کلید واژه: فاکتور رونویسی NF-κB، مصدومین شیمیائی، گاز خردل، التهاب، سردشت، سایتوکاین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۵/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۳۰

تغییر فعالیت NFκB در سکته مغزی، حملات شدید صرع، صدمه تروماهی به مغز، بیماری آزالیمر، بیماری پارکینسون، amyotrophic lateral sclerosis، اولسرگاستریک، بیماری کرون، بیماری هانتینگتون، گلومرونفریت ایمنی، پسوریازیس، سوختگی ناشی از آفتاب، بیماری لایم، درماتیت تماسی، سرطان پوست، دیابت و ... دیده‌می‌شود (۲۰-۱۴).

فعالیت NFκB جزء پایه‌ای مکانیسم پاتولوژیک آسم و دیگر بیماری‌های مزمن انسداد تنفسی و نیز فیبروز سیستیک می‌باشد (۲۱). NFκB از طریق مسیرهای سیگنالینگ متنوع سبب القاء بیان تعدادی از سایتوکاین‌های التهابی و پیش‌التهابی شامل: GM-CSF, TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ , IL1 $\beta$ , IL2, IL3, IL5, IL6, IL8, MIP1 $\alpha$ , IL12, IL18 MIP2, MCP1, GRO $\alpha$ , GRO $\beta$ , GRO $\gamma$ , RANTES, ICAM1, VCAM1, E-selectin, P-selectin, MadCam1 می‌شود. این فاکتور همچنین باعث القاء تولید برخی از ایمنورسپتورها، پروتئین‌های فاز حاد و آنزیمهای مانند [iNOS, cyclooxygenase (COX)-2, PLA2, lipoxygenase (5-LO)] می‌شود (۲۲-۲۴).

دی (۲۲ کلرو اتیل) سولفید که سولفور موستارد با گاز خردل نیز نامیده می‌شود 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 (۲۵-۲۷). سولفور موستارد یک عامل آلکیله‌کننده است که توانایی آسیب‌رساندن به آنزیمهای استرس‌اکسیداتیو را القاء می‌نماید (۳۰-۲۸).

پاسخ‌های ایمنی و دیگر ماقرومولکول‌ها را داشته و سال‌ها پس از مواجهه با گاز خردل، مصدومین شیمیائی هنوز از عوارض این گاز رنج می‌برند (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)<sup>۱</sup> نشان می‌دهد که تغییراتی در پاسخ‌های ایمنی و التهابی در این مصدومان رخ داده است. سطح سرمی IL1 $\beta$ , IL1 $\alpha$ , IL1Ra, IL8, TNF, IL1Ra و IL6 کاهش یافته است (۳۴-۳۳).

همچنین مطالعه غلظت سرمی کموکاین‌ها دچار تغییراتی شده است: MCP1/CCL2 افزایش یافته و RANTES/CCL5 و CXCL8 IL8 کاهش یافته است (۳۵). مطالعه انجام شده

## مقدمه

فاکتور رونویسی NF-κB در سال ۱۹۸۶ به عنوان پروتئین متصل‌شونده به DNA که یک موتیف بسیار مهم را در بخش انترونیک زنجیره سبک ایمنوگلوبین κ شناسائی می‌کند معروفی شد (۲۱). در پی تحقیقات بعدی روش گردید که این فاکتور در انواع مختلفی از سلول‌ها حضور دارد که بصورت خانواده‌ای از همو یا هترودایمراهای متفاوت می‌باشد (Rel family) (۳). فاکتور رونویسی NFκB از نظر فیلوزنی از حشرات تا پستانداران بدون تغییر باقی مانده است که این موضوع اهمیت این فاکتور را نمایان می‌کند.

خانواده NFκB از پنج عضو شامل: Rel B, Rel A (p65), NFκB1(p50) و NFκB2(p52)، c-Rel این پروتئین‌ها در سیتوپلاسم سلول بصورت غیرفعال در اتصال با مهارکننده خود یعنی IκB باقی می‌مانند تا سیگنال مناسب جهت فعال شدن را دریافت نمایند (۴). NFκB در پاسخ به محرک‌های سلولی تحریک شده و فعال می‌شود. تاکنون حدود ۴۵۰ محرک، از جمله محرک‌های فیزیکی، شیمیائی، فیزیولوژیک و اکسیدان‌ها برای NFκB شناسائی شده است. همچنین مایتوژن‌ها، لیگاند رسپتورها، باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها، قارچ‌ها و تولیدات آن‌ها، سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و برخی شرایط پاتولوژیک از جمله محرک‌های این فاکتور رونویسی می‌باشند (۶-۷).

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 می‌توان به تنظیم پاسخ‌های ایمنی و التهابی و تکثیر سلولی و آپوپتوز اشاره نمود. فعالیت NFκB برای خون‌سازی و افتراق و بلوغ هر دو گروه سلولهای ایمنی یعنی سلول‌های میلولئیدی و لنفوئیدی از جمله سلولهای NK cell, T, B، سلولهای دندرتیک، ماکروفاز و نوتروفیل ضروری است (۱۱-۸). تولید IL12 توسط سلولهای دندرتیک انسانی نیازمند فعالیت NFκB است (۱۲).

فاکتور رونویسی NFκB عرضه تعداد بسیار زیادی از ژن‌های پیش‌التهابی از جمله سایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها، گیرنده‌های ایمنی، آنزیمهای و دیگر مولکول‌های پیش‌التهابی را بر عهده دارد (۱۳). فعالیت نامناسب NFκB یکی از مکانیسم‌های برخی از بیماری‌های است به ویژه آن‌هایی که با التهاب یا آپوپتوز یز همراه هستند.

<sup>۱</sup> - Sardasht- Iran Cohort Study

نمونه‌های تهیه شده بلافاصله در نیتروژن مایع قرارداده شدند تا به آزمایشگاه تهران منتقل گردند.

#### cDNA جهت ساخت RT-PCR:

با بکارگیری روش RT-PCR، نمونه‌های RNA با استفاده از پرایمر الیگو dT (Oligo-dT) به روش زیر به cDNA تبدیل شد. RNA استخراج شده با پرایمر Oligo-dT در یک تیوب استریل به مقادیر لازم اضافه گردید. تیوب مورد نظر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد قرارداده شد و بلافاصله بر روی یخ منتقل گردید. مخلوط حاصل به تیوب AccPower RT PreMix (Bioneer) به حجم ۵۰ میکرولیتر رسانده شد. 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

#### PCR واکنش

طراحی پرایمر جهت تکثیر ژن‌های NF $\kappa$ B و  $\beta$ -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 ۳-۱ آورده شده‌است:

جدول ۱. توالی پرایمرها

پرایمر	توالی پرایمرها <sup>۳</sup>
NF $\kappa$ B (forward)	CAAGGCAGCAAATAGACGAG
NF $\kappa$ B (reverse)	GTTGAGAGTTAGCAGTGAGGCA
B-actin (forward)	CCT GGA GGA GAG CTA CGA G
$\beta$ -actin (reverse)	TTC ATG ATG GAG TTG AAG GT

جهت بررسی بیان ژن NF $\kappa$ B و  $\beta$ -actin از واکنش PCR استفاده شد. برنامه مورد استفاده در ادامه آورده شده‌است:

بر روی سلکتین‌های P، E و L در سرم این مصدومین نشان داد که E-selectin محلول افزایش یافته و P-selectin و L-selectin محلول کاهش یافته است (۳۶).

اگرچه مطالعات دیگر در مدل‌های آزمایشگاهی نشان می‌دهد که گاز خردل در کوتاه مدت باعث افزایش سایتوکاین‌های التهابی می‌شود (۳۷)، ولی مطالعات سرداشت نشان داد که گاز خردل در درازمدت باعث کاهش این سایتوکاین‌ها در انسان شده است. از طرفی تاکنون مکانیسم‌های مولکولی دخیل در ایجاد این تغییرات ناشناخته باقی مانده است، با توجه به نقش فاکتور رونویسی NF $\kappa$ B در بیان این سایتوکاین‌ها، در مطالعه حاضر به بررسی بیان این فاکتور پرداخته شده است.

#### مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه: جامعه آماری مورد مطالعه در این مطالعه عبارت بود از ۱۸۹ نفر از مصدومین شیمیائی شهرستان سرداشت 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  $\chi^2$  و T-test بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین جهت آنالیز داده‌های ناپارامتری از آزمون ناپارامتری من و بتنی<sup>I</sup> و کروسکال والیس<sup>II</sup> استفاده گردید.

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

#### استخراج 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

<sup>I</sup> - Mann-Witney

<sup>II</sup> - Kruskall-Wallis

<sup>۳</sup> - diethylpyrocarbonate- distilled water

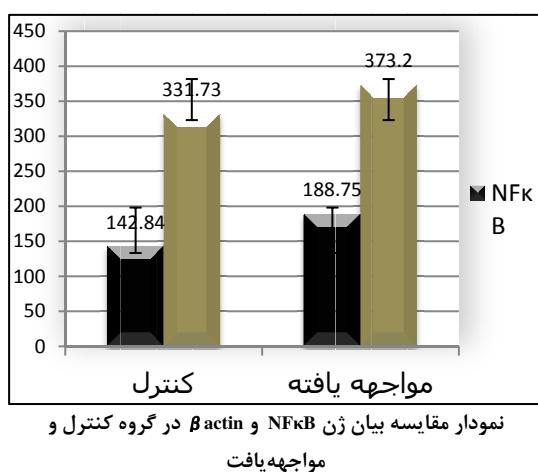
جدول ۴: اطلاعات دموگرافیک جمعیت مورد مطالعه

p-value	مواجهه یافته	کنترل	متغیرها
	۱۸۹	۲۲	تعداد نمونه
۰,۰۷۰	۹,۱ ± ۴۲,۰	۱۰,۵ ± ۳۸,۸	سن (میانگین ± انحراف معیار)
۰,۱۳۰	٪ ۵۷,۷	٪ ۷۱,۹	زیر دیپلم
	٪ ۴۲,۳	٪ ۲۸,۱	بالای دیپلم
۰,۸۶۵	٪ ۸,۵	٪ ۹,۴	مجرد
	٪ ۹۱,۵	٪ ۹۰,۶	متاهل

بررسی میزان بیان NF $\kappa$ B در دو گروه کنترل و مواجهه یافته نشان داد که میانه NF $\kappa$ B در گروه مواجهه یافته ۱۸۸,۷۵ نانوگرم در میکرولیتر و در گروه کنترل ۱۴۲,۸۴ نانوگرم در میکرولیتر بود که میزان بیان NF $\kappa$ B 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 NF $\kappa$ B در دو گروه (از آنجا که داده‌ها از توزیع نرمال پیروی نمی‌کنند لذا همه آنالیزها به صورت ناپارامتری انجام شد)

β actin	NF $\kappa$ B		متغیرها
۲۲	۳۱	تعداد	کنترل
۳۳۱,۷۳	۱۴۲,۸۴	میانه	
۶۵,۸۲	۲۵,۷۴	Q1	
۶۳۶,۰۸	۲۰۰,۰۰	Q3	
۱۸۹	۱۸۲	تعداد	مواجهه یافته
۳۷۳,۲۰	۱۸۸,۷۵	میانه	
۱۹۶۶,۴۴	۸۷,۹۱	Q1	
۶۷۸,۸۲	۳۰۸,۱۴	Q3	
۰,۲۰۴	۰,۰۰۹	P-value Mann-Whitney	



جدول ۲: برنامه واکنش PCR ژن β-actin

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

جدول ۳: برنامه واکنش PCR ژن NF $\kappa$ B

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

#### الکتروفورز و آنالیز محصولات PCR:

محصول بدست آمده از واکنش PCR بر روی ژل الکتروفورز شده و با اتیدیوم بروماید رنگآمیزی شد. ژل‌های تهیه شده توسط Gel documentation Gel documentation عکسبرداری شد. عکس‌های تهیه شده جهت بررسی‌های بعدی ذخیره گردید. در مرحله بعد عکس‌ها با استفاده از نرم‌افزار (v:11.5) Totallab Quant آنالیز شد.

#### یافته‌ها

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٪ تأهل و ۸,۵٪ مجرد بودند. از لحاظ وضعیت تحصیلی، افراد زیردیپلم 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).

می‌نماید (۴۰). فاکتور NF<sub>κB</sub> در مراحل مختلف افتراءق سل‌ها و Tسل‌ها 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، سیستیک 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 NF<sub>κB</sub> هیچ مطالعه‌ای انجام نگرفته است ولی مطالعات محدودی در مورد اثرات زودرس گاز خردل بر NF<sub>κB</sub> انجام شده است. Rebholz B و همکاران نشان دادند که میزان NF<sub>κB</sub> در سلول‌های کراتینوسایت که تحت تأثیر سولفور موستارد قرار گرفتند افزایش داشته است. Arttatrana Pal و همکاران با بررسی تأثیر سولفور موستارد بر سلول‌های پوستی موش نشان دادند که فاکتور NF<sub>κB</sub> در این سلول‌ها افزایش داشته است. 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 نشان دادند که تنفس این ماده محرک ریه‌ها، سبب افزایش بیان NF<sub>κB</sub> در این رت‌ها شده است، که دلیل آن را ایجاد التهاب در ریه این حیوانات عنوان می‌کند (۴۸). در این مطالعه شاید بتوان افزایش سطح NF<sub>κB</sub> را با وجود التهاب در ریه مرتبط دانست.

پورآذر و Yun YP هر یک در مطالعه خود به بررسی اثر دود اگزوز موتورهای دیزل در رده‌های سلولی و اثر آن بر NF<sub>κB</sub> پرداختند که نتایج حاصل از این مطالعات نیز حاکی از افزایش معنی‌دار بیان NF<sub>κB</sub> بود (۴۹ و ۵۰). Damien van Berlo با مطالعه اثر کوارتز بر سلول‌های ریه نشان داد که کوارتز سبب ایجاد التهاب در سلول‌های اپی‌تیلیال ریه شده، افزایش بیان NF<sub>κB</sub> را در پی دارد (۵۱). همچنانکه در موارد فوق‌الذکر مشاهده می‌شود تنفس یک گاز سمی سبب ایجاد التهاب و افزایش میزان NF<sub>κB</sub> شده است 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 NF<sub>κB</sub> است.

## 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 سرددشت نمونه بارزی از حمله رژیم بعث به مناطق مسکونی می‌باشد. افراد مصدوم پس از مواجهه دچار عوارض متعددی گشتند که شامل عوارض زودرس که بلافضله 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 گرفته است. 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 گرفته است. از جمله کارهای تحقیقاتی که بطور علمی و سیستماتیک در این زمینه انجام شده است طرح ملی تحقیقاتی کوهرت تاریخی سرددشت 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 آلکیله 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 شده است. در مطالعه حاضر به بررسی بیان فاکتور رونویسی NF<sub>κB</sub> پرداخته شده است. سلول‌های خون محیطی مصدومان شیمیائی جهت ارزیابی بیان ژن NF<sub>κB</sub> مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان این فاکتور در این سلول‌ها در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشته و این افزایش از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری است.

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

چون در ناحیه پرومотор پروگسیمال<sup>۱</sup> رونویسی این ژن در در بالا دست محل رونویسی منطقه اتصال NFκB وجوددارد. 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 می‌شود و L سلکتین بر روی لکوسیتها بیان می‌شود، از آنجا که میزان سلولهای خون محیطی مصدومان شیمیائی نسبت به گروه کنترل آنچنان که در مطالعه شمس و همکاران آمده است کاهش پیداکرده 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 می‌کند، از آنجا که سلولهای خونی در این مصدومان کاهش داشته این احتمال وجوددارد که افزایش این فاکتور جهت جبران این کمبود بوده باشد (۵۶).

علاوه بر سایتوکاین و مولکولهای چسبان، NFκB نقش بسزایی در رونویسی مولکولهای کموکاین دارد. غضنفری و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی سطح سرمی کموکاین‌های افراد مواجهه یافته با سولفور موستارد پرداخته و آنرا با گروه کنترل مقایسه نمودند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که میزان MCP1 در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است. آن‌ها نشان دادند که این افزایش میزان MCP1 با یافته‌های پاتولوژیک در افراد مواجهه یافته همخوانی دارد. فاکتور MCP1 از کموکاین‌های مهم می‌باشد که بر روی سلولهای اندوتیال، سلولهای عضلات صاف و ماقروفزتها در پاسخ به برخی محرک‌ها از جمله IL1β، LDL اکسیدشده و CD40L بیان می‌شود. مسیر اصلی بیان MCP1 توسط فاکتور رونویسی NFκB و از طریق القاء بوسیله IL1β می‌باشد (۵۷). از طرفی نتایج حاصل از مطالعات قبلی حاکی از کاهش میزان IL1β بوده‌اند، علت این اختلاف احتماً به این دلیل باشد که متعاقب کاهش IL1β در سرم این افراد و کاهش القا MCP1 توسط آن، مسیرهای دیگر القا تولید MCP1 فعال شده‌اند از جمله این مسیرها می‌توان 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 سرددشت میزان فاکتورهای التهابی کاهش معنی‌داری داشته است (۵۲). از آنجا که ژن این فاکتورها توسط NFκB رونویسی می‌شوند، انتظار می‌رفت 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 معنی‌داری نداشته است (۵۳). چون IL10 فعالیت مهاری خود را از طریق مهار فاکتور NFκB اعمال می‌کند. بنابراین عدم افزایش IL10 با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد.

غضنفری و همکاران در مطالعه خود به بررسی سطح سرمی نیتریت‌اکساید (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 معنی‌داری نداشتند. NO از مهارکننده‌های NFκB می‌باشد که این کار را از دو طریق انجام می‌دهد: ۱- با زیر واحد p50 از NFκB واکنش داده و از ورود آن به داخل هسته جلوگیری می‌کند. ۲- افزایش IκB که سبب مهار NFκB می‌شود. از آنجا که NO در این افراد افزایش نداشته است بنابراین فعالیت مهاری آن نیز بر فاکتور NFκB وجود نداشه و افزایش میزان NFκB دیده می‌شود که این نتایج با یافته‌های ما همخوانی دارد (۵۴). مولکولهای چسبان از دیگر مواردی است که فاکتور NFκB در رونویسی آن نقش دارد. پرائی و همکاران با بررسی سطح سرمی سلکتین‌ها در این مصدومان نشان دادند که L سلکتین و P سلکتین در مقایسه با گروه E کنترل کاهش معنی‌داری داشتند. همچنین میزان E سلکتین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت. سلکتین‌ها از جمله مولکولهای چسبان هستند که در واکنش‌های التهابی نقش مهمی بر عهده دارند. مولکول E سلکتین بر روی سلولهای اندوتیال بیان می‌شود. عرضه آن نیازمند رونویسی ژن مربوطه می‌باشد.

<sup>۱</sup> - 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 ( $p=0.20$ ). 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 آنها افزایش داشت می توان به موارد زیر اشاره نمود: خارش، روزیس، کراتینوزیس پیلاری، هیپرپیگماتانتاسون، سوختگی و اسکار موستارد.

فاکتور NF $\kappa$ B در بسیاری از اعمال سلوی 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 پیامدهای بدنی بال داشته باشد و بروز برخی از مشکلات ریوی را می توان به افزایش آن مرتبط دانست. از آنجایی که سنجش NF $\kappa$ B 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 الق MCP1 توسط IL1 $\beta$  بدليل 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 آنها وجود ندارد ( $p=0.302$ ). این در حالی 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 (۵۹-۶۰).

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 اسپیرومتری و تعیین پارامترهای اسپیرومتری در افراد مواجهه یافته و گروه کنترل و مقایسه آنها با یکدیگر نشان داد که در صد FEV1 در آنها 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 اسپیرومتری نیز دارای اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه کنترل هستند. از جمله : FEV1/FVC%, PEF%, MMEF% همخوانی ندارد که شاید بدليل تعداد کم نمونه ها در گروه کنترل در مطالعه ما باشد.

از عوارض خردل مشکلات ریوی و تنفسی، تغییرات پارامترهای اسپیرومتری و تنگی مجرای تنفسی است که اکسیژن رسانی به بافت ها را با مشکل مواجه خواهد نمود از آنجا که کمبود اکسیژن و هیپوکسی سبب افزایش بیان NF $\kappa$ B می شود، احتمال دارد یکی از دلایل افزایش این فاکتور در مصدومین مورد مطالعه مشکلات تنفسی وجود هیپوکسی باشد (۶۱-۶۲).

### منابع

- Sen R, Baltimore D, Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF $\kappa$ B 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 Commanda 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 factorkappa 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. Lamhamdi-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,<sup>1</sup> Anders Sundqvist,<sup>2</sup> 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 gasPoisoning 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. GhasemiH,Ghazanfari T, Yaraee R, SoroushMR,Ghassemi-BroumandM, 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 NFκB 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-κB 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-κB 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 κB 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-κB in colon cancer]. *Korean J Gastroenterol.* 2011 Jan 25;57(1):3-7.
46. Luedde T., Schwabe R. F. NF-κB 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-κB 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-1β 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-1α, IL-1β 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 NFκB 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., Egido 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- $\kappa$ B in hypoxic inflammation, *J Physiol* 586.17 (2008) pp 4055-4059
62. Gőrlach Agnes, bonello Steve, The cross-talk between NF- $\kappa$ B and HIF-1: further evidence for a significant Liaison, *Biochem. J.* 2008; 412: e17-e19