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]، محمدمهدی نقی‌زاده[۸]

[۱]کارشناس‌ارشد ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، [۲]استاد ایمونولوژی، مرکز تحقیقات تنظیم پاسخ‌های 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 پاسخ‌های 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 ژن‌های پیش‌التهابی از جمله سایتوکاین‌ها، کموکاین‌ها، گیرنده‌های ایمنی، آنزیم‌ها و دیگر مولکول‌های پیش‌التهابی را برعهده دارد. فعالیت نامناسب NFκB یکی از مکانیسم‌های برخی از بیماری‌هاست به ویژه آن‌هایی که با التهاب یا آپوپتوزیز همراه هستند. سولفور موستارد یک عامل آلکیله‌کننده است که توانائی آسیب‌رساندن به آنزیم‌ها، DNA و دیگر ماکرومولکول‌ها 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 داده‌است. با توجه به اهمیت این فاکتور در تنظیم پاسخ‌های التهابی و ایمنی و مشکلات این مصدومین، در این تحقیق به بررسی میزان بیان NFκB پرداخته‌شد.

هدف: ارزیابی بیان ژن NFκB 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 استفاده‌شد.با استفاده از نرم‌افزار و روش‌های آماری SPSS و $\chi 2$ و T-test نتایج بدست آمده مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفت. جهت آنالیز داده‌های ناپارامتری از آزمون ناپارامتری من‌ویتنی و کروسکال‌والیس استفاده‌گردید. میزان بیان NF κ B با استفاده از تکنیک PCR در نمونه گلبول‌های سفید خون محیطی مورد ارزیابی قرارگرفت.

یافته‌ها: بررسی میزان بیان NFκB در دو گروه کنترل و مواجهه‌یافته نشان‌داد که میانه NFκB در گروه مواجهه‌یافته نسبت به گروه کنترل افزایش‌یافته است. این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود (p=۰,۰۰۹).

نتیجه‌گیری: فاکتور NFκB 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 نشان‌داد که احتمالاً جهت جبران کاهش فاکتورهای التهابی افزایش داشته است.

کلید واژه: فاکتور رونویسیNFκB، 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 متصل‌شونده به DNA که یک موتیف بسیار مهم را در بخش انترونیک زنجیره سبک ایمنوگلوبین κ شناسائی می‌کند معرفی شد (۲و۱). در پی تحقیقات بعدی روشن گردید که این فاکتور در انواع مختلفی از سلول‌ها حضور دارد که بصورت خانواده‌ای از همو یا هترودایمرهای متفاوت می‌باشد (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 می‌کند.

خانواده NFκB از پنج عضو شامل: Rel A (p65)، Rel B، c-Rel، NFκB1(p50) و NFκB2(p52) تشکیل شده‌است. این پروتئین‌ها در سیتوپلاسم سلول بصورت غیرفعال در اتصال با مهارکننده خود یعنی IκB باقی می‌مانند تا سیگنال مناسب جهت فعال شدن را دریافت‌نمایند (۵و۴). NFκB در پاسخ به محرک‌های سلولی تحریک شده و فعال می‌شود. تاکنون حدود ۴۵۰ محرک، از جمله محرک‌های فیزیکی، شیمیائی، فیزیولوژیک و اکسیدآن‌ها برای NFκB شناسائی شده‌است. همچنین مایتوژن‌ها، لیگاند رسپتورها، باکتری‌ها، ویروس‌ها، انگل‌ها، قارچ‌ها و تولیدات آن‌ها، سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و برخی شرایط پاتولوژیک از جمله محرک‌های این فاکتور رونویسی می‌باشند (۷و۶).

این فاکتور رونویسی در فعالیت‌های متنوع سلولی دخیل بوده و در اعمال بیولوژیک متفاوتی دارای نقش حائز اهمیتی است. از اعمال شناخته‌شده 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 میلوئیدی و لنفوئیدی از جمله سلولهای T، B، NK cell، سلولهای دندرتیک، ماکروفاژ و نوتروفیل ضروری‌است (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، آنزیم‌ها و دیگر مولکول‌های پیش‌التهابی را برعهده دارد (۱۳). فعالیت نامناسب NFκB یکی از مکانیسم‌های برخی از بیماری‌هاست به ویژه آن‌هایی که با التهاب یا آپوپتوزیز همراه هستند. تغییر فعالیت NFκB در سکته مغزی، حملات شدید صرع، صدمه ترومائی به مغز، بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون،amyotrophic lateral sclerosis، تشکیل 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: 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 می‌شود. این فاکتور همچنین باعث القاء تولید برخی از ایمنورسپتورها، پروتئین‌های فاز حاد و آنزیم‌هائی مانند [iNOS, cyclooxygenase (COX)-2, PLA2, lipoxygenase (5-LO)] می‌شود (۲۴-۲۲).

دی (۲کلرو اتیل) سولفید که سولفور موستارد یا گاز خردل نیز نامیده می‌شود از همان ابتدای کشف بعنوان عامل جنگی مورد سوءاستفاده قرار گرفته‌است. این عامل شیمیائی به کرات در جنگ جهانی اول و جنگ عراق-ایران مورد استفاده قرار گرفت (۲۷-۲۵). سولفور موستارد یک عامل آلکیله‌کننده است که توانائی آسیب‌رساندن به آنزیم‌ها، DNA و دیگر ماکرومولکول‌ها را داشته و پاسخ‌های استرس‌اکسیداتیو را القاء می‌نماید (۳۰-۲۸).

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)[I] نشان می‌دهد که تغییراتی در پاسخ‌های ایمنی و التهابی در این مصدومان رخ داده‌است. سطح سرمی IL1α، IL1β، TNF،IL1Ra، IL8، و IL6 کاهش یافته‌است (۳۴-۳۳). همچنین مطالعه غلظت سرمی کموکاین‌ها دچار تغییراتی شده‌است:MCP1/CCL2 افزایش‌یافته وRANTES/CCL5 و IL8/CXCL8 کاهش یافته‌است (۳۵). مطالعه انجام‌شده

[I] - Sardasht- Iran Cohort Study

بر روی سلکتین‌های P، E 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.

روش های تجزیه و تحلیل نتایج: با استفاده از نرم‌افزار و روش‌های آماری SPSS و $\chi 2$ 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٪

نمونه‌های تهیه‌شده بلافاصله در نیتروژن مایع قرارداده 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 قرارداده‌شد و بلافاصله بر روی یخ منتقل‌گردید. مخلوط حاصل به تیوب AccPower RT PreMix (Bioneer) منتقل و با آب دوبار تقطیر DEPC[III] 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)	CAAGGCAGCAAATAGACGAG
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:

[I] - Mann-Witney
[II] - Kruskall-Wallis
[III] - diethylpyrocarbonate- distilled water

جدول ۲: برنامه واکنش PCR ژن β-actin

	دما	زمان	سیکل
۱	۹۴ درجه سانتیگراد	۲ دقیقه	۱ مرحله
۲	۹۴ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	۳۰ دور
۳	۴۹ درجه سانتیگراد	۴۰ ثانیه	۳۰ دور
۴	۷۲ درجه سانتیگراد	۴۰ ثانیه	۳۰ دور
۵	۷۲ درجه سانتیگراد	۵ دقیقه	۱ مرحله

جدول ۳: برنامه واکنش PCR ژن NFκB

	دما	زمان	سیکل
۱	۹۴ درجه سانتیگراد	۲ دقیقه	۱ مرحله
۲	۹۴ درجه سانتیگراد	۳۰ ثانیه	۳۰ دور
۳	۴۶ درجه سانتیگراد	۴۰ ثانیه	۳۰ دور
۴	۷۲ درجه سانتیگراد	۴۰ ثانیه	۳۰ دور
۵	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 رنگ‌آمیزی شد. ژل‌های تهیه شده توسط Gel documentation بررسی و عکسبرداری شد. عکس‌های تهیه شده جهت بررسی‌های بعدی ذخیره گردید. در مرحله بعد عکس‌ها با استفاده از نرم‌افزار Totallab Quant (v:11.5) آنالیز شد.

یافته‌ها

از مجموع ۲۲۱ نفری که در این مطالعه شرکت داشتند، ۳۲ نفر در گروه کنترل و ۱۸۹ نفر در گروه مواجهه‌یافته قرارگرفتند. در گروه کنترل میانگین سنی ۳۸/۸ با انحراف معیار ۱۰/۵ سال و در گروه مواجهه‌یافته 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 مواجهه‌یافته ۹۱٫۵٪ متأهل و ۸٫۵٪ مجرد بودند. از لحاظ وضعیت تحصیلی، افراد زیردیپلم در گروه کنترل ۷۱٫۹٪ و بالای‌دیپلم ۲۸٫۱٪ و در گروه مواجهه‌یافته این آمار به ترتیب ۵۷٫۷٪ و ۴۲٫۳٪ بود.

مشخصات دموگرافیک فوق از نظر آماری بین دو گروه کنترل و مواجهه‌یافته مورد بررسی قرارگرفت که سن (p=۰٫۰۷۰)، تأهل (p=۰٫۸۶۵) و میزان تحصیلات (p=۰٫۱۳۰) از نظر آماری معنی‌دار نبودند (جدول ۴).

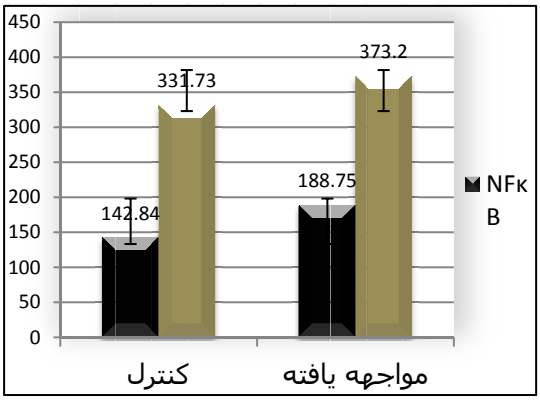
جدول۴: اطلاعات دموگرافیک جمعیت مورد مطالعه

متغیرها		کنترل	مواجهه‌یافته	p-value
تعداد نمونه		۳۲	۱۸۹	
سن(میانگین± انحراف معیار)		۱۰٫۵±۳۸٫۸	۹٫۱ ± ۴۲٫۰	۰٫۰۷۰
میزان تحصیلات	زیر دیپلم	٪۷۱٫۹	٪۵۷٫۷	۰٫۱۳۰
	بالای دیپلم	٪۲۸٫۱	٪۴۲٫۳	
وضعیت تأهل	مجرد	٪۹٫۴	٪۸٫۵	۰٫۸۶۵
	متأهل	٪۹۰٫۶	٪۹۱٫۵	

بررسی میزان بیان NFκB در دو گروه کنترل و مواجهه‌یافته نشان‌داد که میانه NFκB در گروه مواجهه‌یافته ۱۸۸٫۷۵ نانوگرم در میکرولیتر و در گروه کنترل ۱۴۲٫۸۴ نانوگرم در میکرولیتر بود که میزان بیان NFκB در گروه مواجهه‌یافته افزایش یافته‌بود. این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود (p=۰٫۰۰۹). نتایج بدست آمده در جدول۵ خلاصه شده‌است.

جدول۵: مقایسه بیان NFκB در دو گروه (از آنجا که داده‌ها از توزیع نرمال پیروی نمی‌کنند لذا همه آنالیزها به صورت ناپارامتری انجام شد)

متغیرها		NFκB	β actin
کنترل	تعداد	۳۱	۳۲
	میانه	۱۴۲٫۸۴	۳۳۱٫۷۳
	Q1	۲۵٫۷۴	۶۵٫۸۲
	Q3	۲۰۰٫۰۰	۶۳۶٫۰۸
مواجهه‌یافته	تعداد	۱۸۲	۱۸۹
	میانه	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 مواجهه‌یافت

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 قرارگرفت. در این حملات علاوه‌بر نیروهای نظامی، افراد غیرنظامی و مناطق مسکونی زیادی نیز مورد حمله شیمیائی واقع‌گردید 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 وعوارض 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 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 شده‌است. در مطالعه حاضر به بررسی بیان فاکتور رونویسی NFκB پرداخته شده‌است. سلول‌های خون محیطی مصدومان شیمیائی جهت ارزیابی بیان ژن NFκB مورد ارزیابی قرارگرفت. 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 Bسل‌ها و Tسل‌ها از تکامل سلول نابالغ گرفته تا سلول عملگر درگیر است (۴۲و۴۱). 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 (۴۶-۴۳). 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 قرارگرفتند افزایش داشته‌است. Arttatrana 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 اگزوز موتورهای دیزل در رده‌های سلولی و اثر آن بر NFκB پرداختند که نتایج حاصل از این مطالعات نیز حاکی از افزایش معنی‌دار بیان NFκB بود (۵۰و۴۹). 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 فرض‌کرد که این عوامل توکسیک مسیر یا مسیرهای مشترکی را در ریه فعال نموده که پیامد آن افزایش فاکتور NFκB است.

فاکتور NFκB همچنین نقش مهمی در تولید و تنظیم سایتوکاین‌های التهابی دارد. در بررسی فاکتورهای التهابی در مصدومان شیمائی سردشت میزان فاکتورهای التهابی TNF، IL1α، IL1β، IL1Rα در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشته‌است (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 یافته‌باشد.

همچنین میزان IL10 در افراد مواجهه‌یافته در مقایسه با گروه کنترل از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشته‌است (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 نشان‌داد 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 می شود. از آنجا که NO در این افراد افزایش نداشته‌است 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 چسپان از دیگر مواردی است که فاکتور NFκB در رونویسی آن نقش دارد. یارائی و همکاران با بررسی سطح سرمی سلکتین‌ها در این مصدومان نشان‌دادند که L سلکتین و P سلکتین در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشتند. همچنین میزان E سلکتین در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت. سلکتین‌ها از جمله مولکول‌های چسپان هستند که در واکنش‌های التهابی نقش مهمی برعهده دارند. مولکولE سلکتین بر روی سلول‌های اندوتلیال بیان می‌شود. عرضه آن نیازمند رونویسی ژن مربوطه می‌باشد. چون در ناحیه پروموتور پروگسیمال[I] رونویسی این ژن در بالا دست محل رونویسی منطقه اتصال NFκB وجوددارد. بنابراین با افزایش NFκB ممکن است مقدار Eسلکتین هم افزایش‌یابد. 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 آمده‌است کاهش پیداکرده‌بود، ممکن است کاهش این سلکتین‌ها در سرم این افراد به این دلیل باشد (۵۵).

کاهش تعداد سلول‌های خونی که در مطالعه شمس و همکاران‌آمده نکته قابل‌تأمل 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 کاهش‌داشته این احتمال وجوددارد 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 مطالعه‌ای به بررسی سطح سرمی کموکاین‌های افراد مواجهه‌یافته با سولفور موستارد پرداخته و آنرا با گروه کنترل مقایسه نمودند. نتایج حاصل از این بررسی نشان‌داد که میزان MCP1 در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته‌است. آن‌ها نشان‌دادند که این افزایش میزان MCP1 با یافته‌های پاتولوژیک در افراد مواجهه‌یافته همخوانی دارد. فاکتور MCP1 از کموکاین‌های مهم می‌باشد که بر روی سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های عضلات صاف و ماکروفاژها 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 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 شده‌اند از جمله این مسیرها می‌توان به القا توسط PLD یا تیروزین کیناز

[I] - Proximal Promoter

اشاره‌کرد. به عبارت دیگر چون مسیر القا MCP1 توسط IL1β بدلیل کاهش میزان آن با کمبود مواجه شده‌است از مسیرهای دیگر جهت جبران MCP1 استفاده شده‌است (۵۸). بنابراین در سرم این افراد افزایش سطح MCP1 دیده می‌شود.

در مطالعه ما مقایسه افراد مواجهه‌یافته و کنترل از لحاظ مشکلات چشمی نشان‌داد که رابطه آماری معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد (p=۰,۳۰۲). این درحالی است که در مطالعه قاسمی و همکاران ارتباط آماری معنی‌داری وجودداشت. اختلاف میان نتایج ما و ایشان به احتمال زیاد مربوط به تعداد کم نمونه‌های کنترل در مطالعه ما است (۶۰-۵۹).

نتایج حاصل از مطالعه ما نشان‌داد که مشکلات ریه در افراد مواجهه‌یافته با سولفور موستارد نسبت به افراد گروه کنترل از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری بودند (p=۰,۰۳۳). این اختلاف بدین معنی‌است که یکی از اثرات گاز خردل ایجاد مشکلات ریوی در افراد مواجهه‌یافته می‌باشد. بررسی افراد با اسپیرومتری و تعیین پارامترهای اسپیرومتری در افراد مواجهه‌یافته و گروه کنترل و مقایسه آن‌ها با یکدیگر نشان‌داد که درصد FEV1 در آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد. این نتایج با نتایج پورفرزام و همکاران همخوانی دارد. در مطالعه پورفرزام و همکاران علاوه بر FEV1% سایر پارامترهای اسپیرومتری نیز دارای اختلاف معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل هستند. از جمله : FVC%، FEV1/FVC%، MMEF%، PEF%. این نتایج با نتایج حاصل از بررسی ما همخوانی ندارد که شاید بدلیل تعداد کم نمونه‌ها در گروه کنترل در مطالعه ما باشد.

از عوارض خردل مشکلات ریوی و تنفسی، تغییرات پارامترهای اسپیرومتری و تنگی مجاری تنفسی است که اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها را با مشکل مواجه خواهدنمود از آنجا که کمبود اکسیژن و هیپوکسی سبب افزایش بیان NFκB می‌شود، احتمال دارد یکی از دلایل افزایش این فاکتور در مصدومین مورد مطالعه مشکلات تنفسی و وجود هیپوکسی باشد (۶۲و۶۱).

نتایج حاصل از مطالعه ما نشان‌داد که مشکلات پوستی در افراد مواجهه‌یافته با سولفور موستارد نسبت به افراد گروه کنترل از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری بودند (p=۰,۰۲۰). این اختلاف بدین معنی است که یکی از اثرات گاز خردل ایجاد مشکلات پوستی در افراد مواجهه‌یافته می‌باشد. معین و همکاران در مطالعه خود که به بررسی مشکلات پوستی مصدومان پرداخته‌اند نشان‌دادند که مشکلات پوستی در مقایسه با افراد گروه کنترل دارای اختلاف معنی‌داری است. که با نتایج ما همخوانی دارد. از جمله مواردی که در مطالعه آن‌ها افزایش داشت می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: خارش، زروزیس، کراتینوزیس پیلاری، هیپرپیگمانتانسون، سوختگی و اسکار موستارد .

فاکتور NFκB در بسیاری از اعمال سلولی دخیل است و کاهش یا افزایش آن می‌تواند نتایج خاص خود را داشته‌باشد. با توجه به کاهش فاکتورهای التهابی در این مصدومان، انتظار کاهش آن می‌رفت که نتایج مطالعه حاضر افزایش آن را نشان‌داد که به احتمال زیاد جهت جبران کاهش فاکتورهای التهابی افزایش داشته‌است. از آنجا که این فاکتور همیشه بعنوان یک شمشیر دو لبه مطرح بوده‌است، این افزایش خود می‌تواند پیامدهائی بدنبال داشته‌باشد و بروز برخی از مشکلات ریوی را می‌توان به افزایش آن مرتبط دانست. از آنجایی‌که سنجش NFκB در این مطالعه به روش نیمه کمی RT-PCR بوده‌است انجام مطالعات دقیق‌تر با روش‌های کمی توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجوی کارشناسی‌ارشد 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 رسیده‌است.

منابع

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