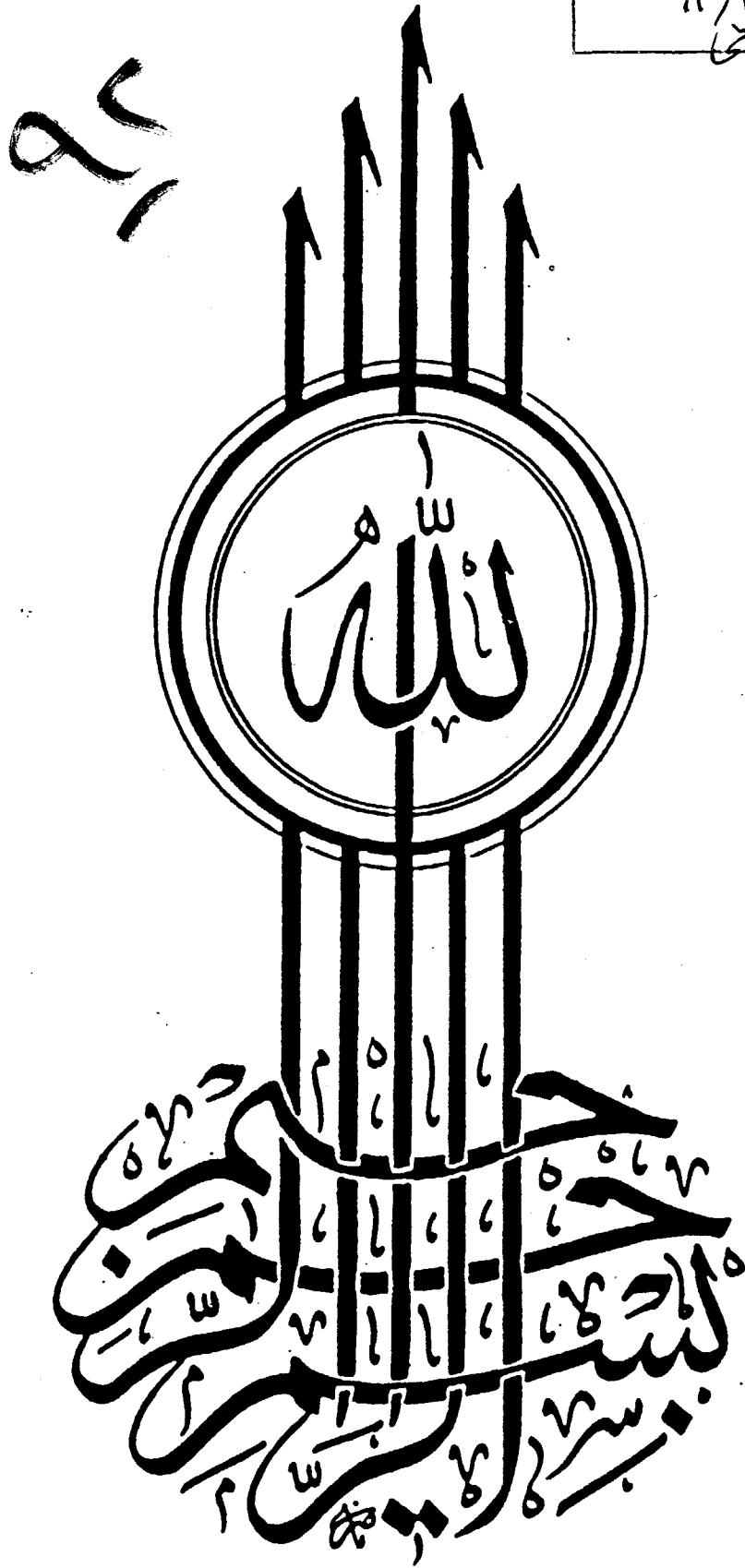


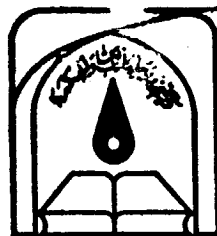
اسکن شد

تاریخ: ۱۱/۱۱/۸۰

توسط: امیر حاجی



۲۴۵۱۹



دانشگاه تربیت مدرس

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم پایه

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته ژنتیک

مطالعات سیتوژنتیکی و ایمنی‌شناسی بر مصدومین شیمیایی
متوسط که در معرض گاز خردل قرار گرفته‌اند با فلوسیتومتر

نگارش:

حمید رضا رضوانی

استاد راهنما:

دکتر محمد رضا نوری دلویی

استادان مشاور:

دکتر زهیر محمد حسن

دکتر محمود خضاب

زمستان ۱۳۷۷

1539/2

۲۴۵۱۹

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

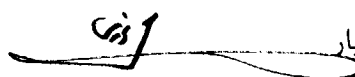

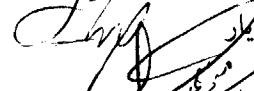

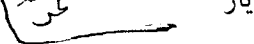
اعضای هیئت داوران نسخه نهایی پایان نامه خانم / آقای حمیدرضا رضوانی

تحت عنوان: مطالعات سیتوژنتیکی و ایمنی شناسی در مجروحان متوسط شیمیایی جنگ تحمیلی گاز خردل

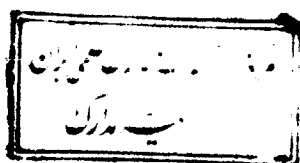
توسط روش فلوسیتومتری

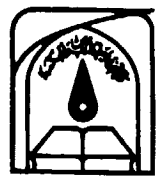
را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنند.

اعضای هیأت داوران نام و نام خانوادگی رتبه علمی امضاء

۱- استاد راهنما	آقای دکتر محمدرضا نوری دلوثی	دانشیار	
۲- استاد مشاور	آقای دکتر زهیر محمد حسن	دانشیار	
۳- استاد مشاور	آقای دکتر محمود خضاب	استادیار	
۴- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	آقای دکتر منوچهر میرشاهی	استادیار	
۵- استاد ناظر	آقای دکتر سید کاظم بیدکی	استادیار	

و ۲ / ۴ / ۱۳۷۸





تاریخ:.....
شماره:.....
پیوست:.....

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظریه اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به مرکز نشر دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:
«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده در رشته سنگ است که در سال ۱۳۷۶ در دانشکده علوم پایه دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم / جناب آقای دکتر ندریسی و مشاوره سرکار خانم / جناب آقای دکتر زهیر محمد حس از آن دفاع شده

است.»

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های نشریات دانشگاه تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به مرکز نشر دانشگاه اهدا کند دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس تأدیه کند.

ماده ۵ دانشجوی تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب حمیرضا رضوانی دانشجوی رشته سنگ مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

حمیرضا رضوانی

تقديم به

صلح و عشق

تشکر و قدردانی

نگارنده وظیفه خود می داند از کلیه افرادی که در طی مراحل مختلف این پژوهش با کمک و همکاری صمیمانه خود در آن نقش داشته اند تشکر و قدردانی نماید:

استاد ارجمند جناب آقای دکتر محمد رضا نوری دلویی استاد محترم راهنما و مدیر محترم گروه ژنتیک که با هدایتهای دلسوزانه و تلاش پیگیر خویش سهم زیادی در اجرای آن داشته اند و در تمام مدت تحصیل از محضر ایشان کسب فیض نمودم.

استاد گرامی جناب آقای دکتر زهیر محمد حسن که مشاوره این پایان نامه را پذیرفتند و در تمام این دوران از آموزه های علمی و اخلاقی ایشان بهره مند بودم.

جناب آقای دکتر محمود خضاب که در طی اجرای این پژوهش از مشاوره رهگشای ایشان استفاده نمودم.

آقای محمد مهدی یعقوبی و آقای ذبیح اله رامشخواه که این پایان نامه با همکاری، همراهی و همیاری ایشان انجام گرفته است.

کارشناسان محترم آزمایشگاههای بخش زیست شناسی خانمها ضمیری، زرنندی و خرمی شاد که از هیچگونه همکاری در زمینه تهیه مواد و دستگاههای مورد نیاز دریغ نورزیدند.

چکیده:

مصدومین شیمیایی که در معرض گاز خردل قرار گرفته‌اند بر اساس مشخصات بالینی ریه (اسپیرومتری، اکسی‌متری و رادیوگرافی سینه) به سه دسته شدید، ملایم و خفیف تقسیم بندی شده‌اند.

به منظور بررسی وضعیت سیتوزنتیکی و ایمنی‌شناسی، ۳۰ نفر از مصدومین متوسط شیمیایی با میانگین سنی ۳۷/۷۳ انتخاب شدند. مقایسه آنها با افراد شاهد نشان داد که میزان هموگلوبین و هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید و درصد نوترفیلها، لنفوسیتها و منوسیتها به طور معنی‌داری متفاوت بود. نتایج حاصل از آزمون ناپارامتری T^2 -هتلینگ نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($P=0/000$) بین مصدومین شیمیایی متوسط و افراد شاهد بود. بررسی آماری همبستگی بین متغیرهای ذکر شده با سن مصدومین نشان داد که همبستگی وجود نداشت.

بررسی گسترشهای متافازی نشان داد که میزان ناهنجاریهای عددی و همچنین میزان شکستگی‌های کروموزومی در مصدومین متوسط و افراد شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند. مقایسه شاخص DNA نشان داد تعداد افرادی که در گروههای هیپودیپلوئید، دیپلوئید و هیپر دیپلوئید دسته‌بندی شدند، تفاوت معنی‌دار نداشتند. به علاوه مقایسه میانگین DI هر جمعیت بین دو جامعه مصدومین و افراد شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. بررسی همبستگی بین تعداد کروموزومهای متافازی و شاخص DNA نشان‌دهنده وجود همبستگی ($r=0/54$) بین دو متغیر بود.

با توجه به بررسیهایی که بر روی مصدومین شدید شیمیایی انجام گرفته است، به نظر می‌رسد که از مطالعه عوامل خونی و میزان DNA می‌توان به عنوان عامل پیش‌آگهی مناسب بهره برد. کلمات کلیدی: مصدومین شیمیایی، خردل، کاریوتیپ، شکستگی کروموزومی، فلوسیتومتری

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فصل اول: مقدمه
۲	۱-۱- مقدمه
۷	۲-۱- خواص گاز خردل
۷	۱-۲-۱- مقدمه: ساخت گاز خردل
۹	۲-۲-۱- خواص فیزیکی و شیمیایی گاز خردل
۱۱	۳-۲-۱- میانکنش خردل با DNA
۱۳	۳-۱- آثار گاز خردل
۱۳	۱-۳-۱- آثار سیتوتوکسیکی گاز خردل
۱۶	۲-۳-۱- آثار سرطانزایی گاز خردل
۱۸	۳-۳-۱- آثار گاز خردل بر انرژی سلول
۱۹	۴-۳-۱- آثار گاز خردل بر سیستم ایمنی
	۵-۳-۱- آثار گاز خردل بر سیستم تنفسی و دستگاه تناسلی، گوارشی، پوست و چشم
۲۰	
۲۱	۶-۳-۱- آثار گاز خردل بر غشاء سلول، آنتی اکسیدانتها و آنزیمها
۲۲	۴-۱- متابولیسم و دفع خردل
۲۵	۵-۱- فلوسیتومتر
۲۸	۱-۵-۱- کلیات دستگاه فلوسیتومتری
۳۳	۲-۵-۱- کاربردهای فلوسیتومتری

صفحه	عنوان
۳۷	۳-۵-۱- کاربردهای بالینی فلوسیتومتری
۳۸	۴-۵-۱- تجزیه و تحلیل DNA

فصل دوم: مواد و روشها

۴۵	۱-۲- مقدمه
۴۵	۲-۲- مطالعات ایمنی شناسی
۴۵	۱-۲-۲- خونگیری از بیماران
۴۶	۲-۲-۲- اندازه گیری هموگلوبین به روش cyan methemoglobin
۴۷	۳-۲-۲- اندازه گیری هماتوکریت
۴۷	۴-۲-۲- شمارش گلبولهای سفید
۴۸	۳-۲- مطالعات سیتوزنتیکی
۴۸	۱-۳-۲- کشت گلبولهای سفید خون محیطی
۵۰	۲-۳-۲- تهیه گسترش کروموزومی
۵۲	۴-۲- مطالعات فلوسیتومتری
۵۲	۱-۴-۲- جداسازی لنفوسیتها
۵۳	۲-۴-۲- رنگ آمیزی لنفوسیتها برای اندازه گیری میزان DNA
۵۵	۳-۴-۲- اندازه گیری میزان DNA توسط فلوسیتومتری
۵۷	۵-۲- تهیه محلولها و بافرها
۵۷	۱-۵-۲- تهیه محلول داربکتز

صفحه	عنوان
۵۷	۲-۵-۲- تهیه محیط کشت RPMI
۵۸	۲-۵-۳- تهیه رنگ گیمسای استوک
۵۸	۲-۵-۴- تهیه بافر فسفات با $PH=7/2$
۵۹	۲-۵-۵- تهیه بافر فسفات با $PH=6/8$
۵۹	۲-۶- آماده سازی لام
۶۰	۲-۷- انتخاب افراد برای نمونه گیری

فصل سوم: نتایج

۶۳	۳-۱- مقدمه
۶۳	۳-۲- نتایج حاصل از مطالعات ایمنی شناسی
۶۳	۳-۲-۱- نتایج حاصل از مقایسه سن مصدومین شیمیایی متوسط و افراد شاهد
۶۶	۳-۲-۲- نتایج حاصل از اندازه گیری هموگلوبین
۶۹	۳-۲-۳- نتایج حاصل از اندازه گیری هماتوکریت
۶۹	۳-۲-۴- نتایج حاصل از شمارش گلبولهای سفید
۷۳	۳-۲-۵- نتایج حاصل از شمارش افتراقی گلبولهای سفید
۷۴	۳-۲-۵-۱- مقایسه درصد نوتروفیل‌های مصدومین شیمیایی و افراد شاهد
۷۴	۳-۲-۵-۲- مقایسه درصد لنفوسیت‌های مصدومین شیمیایی و افراد شاهد
۷۵	۳-۲-۵-۳- مقایسه درصد منوسیت‌های مصدومین شیمیایی و افراد شاهد
۷۵	۳-۲-۵-۴- مقایسه درصد ائوزینوفیل‌های مصدومین شیمیایی و افراد شاهد

۶-۲-۳- بررسی همبستگی متغیرهای اندازه گیری شده با سن مصدومین	
شیمیایی.....	۸۱
۷-۲-۳- مقایسه جامعه مصدومین شیمیایی و جامعه افراد شاهد توسط	
آزمون ناپارامتری T^2 - هتلینگ.....	۸۲
۳-۳- نتایج حاصل از مطالعات سیتوزنتیکی.....	۸۵
۱-۳-۱- بررسی ناهنجاری عددی.....	۸۵
۲-۳-۳- بررسی شکستگی کروموزومی.....	۸۷
۴-۳- نتایج حاصل از اندازه گیری میزان DNA توسط فلو سیتومتر....	۹۴
۵-۳- مقایسه نتایج حاصل از شمارش کروموزومی و یافته های	
حاصل از فلو سیتومتری.....	۱۰۲

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۱-۴- بحث.....	۱۰۵
۲-۴- نتیجه گیری.....	۱۱۱
۳-۴- پیشنهادها.....	۱۱۱

منابع

منابع.....	۱۱۴
------------	-----

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

آغاز استفاده از سلاحهای شیمیایی، مانند سلاحهای متداول دیگر، به قرنهای پیش از میلاد مسیح برمیگردد. به طور نمونه، اسپارتهای گازهای متصاعد شده از سوختن ذغال خام و گوگرد را برای نابودی دشمن، مورد استفاده قرار می دادند (۱۴).

در سال ۱۸۸۸ دولت انگلیس علیه مهاجرین هلندی افریقای جنوبی از توپهای اسید پیکریک (یک ماده تهوع آور) استفاده کرد. در خلال جنگ جهانی اول (۱۹۱۴-۱۹۱۸) بارها از سلاحهای شیمیایی استفاده شد و از این زمان به بعد، متأسفانه سلاحهای شیمیایی به عنوان یک عامل تهاجمی وارد میدان شد. اولین استفاده وسیع از گازهای شیمیایی در آوریل ۱۹۱۵ توسط نیروهای آلمان بر علیه قوای متفقین و با استفاده از گاز کلر صورت گرفت. در دسامبر ۱۹۱۵ گاز فسژن توسط نیروهای آلمان علیه قوای متفقین به کار گرفته شد. در ژوئیه ۱۹۱۶ آلمانها و متفقین علیه یکدیگر از گاز اشک آور همراه سایر عوامل سمی استفاده کردند. در همین زمان، برای نخستین بار آلمانها گاز خردل را علیه دولتهای متفقین به کار گرفتند و صدمات بسیار جدی به متفقین وارد نمودند (۹، ۱۴).

آمریکائیهها در ۱۹۱۷، لویزیت (Lewisite) را که یک تاولزای شدید است، تولید نمودند و در ۱۹۱۸ آدامزیت (adamsite)، عطسه آور و اشک آور، را ساختند. سپس گاز خردل نیتروژنی (nitrogen mustard) و گازهای عصبی

تابون (Tabun)، سارین (Sarin) و سومان (Soman) ساخته شد (۵، ۹، ۱۴). در ژوئن ۱۹۲۵ در کنفرانس خلع سلاح ژنو، موافقت‌نامه معروف ژنو مبنی بر منع تولید و کاربرد سلاح‌های شیمیایی به تصویب رسید. اما در این پروتکل یک صفحه‌ای، هیچگونه کنترل، رسیدگی و مجازاتی پیش‌بینی نشده بود. این موافقت‌نامه نیز مانند بسیاری از موافقت‌نامه‌های دیگر، متأسفانه نادیده گرفته شد و دولتهای اشغالگری چون فرانسه و ایتالیا برای سرکوب مردم مراکش و حبشه (در سال ۱۹۳۵) از گاز خردل استفاده کردند (۲، ۱۲).

با وجود ذخایر بزرگ سلاح‌های شیمیایی، خوشبختانه، دولتهای درگیر در جنگ جهانی دوم ظاهراً از سلاح‌های شیمیایی استفاده نکردند. اما، پس از جنگ جهانی دوم، آمریکائیا در جنگ ویتنام و کره، به طور وسیع از عوامل شیمیایی استفاده کردند (۱۴).

در جنگ تحمیلی، رژیم ددمنش عراق به دفعات و در سطح وسیع از سلاح‌های شیمیایی مختلف (مانند تابون، خردل، سیانور (Cyanor) و عوامل خفه‌کننده) علیه هدف‌های نظامی و غیرنظامی استفاده کرد، براساس اسناد سازمان ملل، عراق در ۲۵۲ مورد از سلاح‌های شیمیایی استفاده کرده است. این رژیم، اولین بار در ۲۳ دیماه ۱۳۵۹ در منطقه هلاله و نی خزر از سلاح‌های شیمیایی استفاده کرد و در عملیاتهای خیبر، بدر، والفجر و سلسله عملیاتهای کربلا نیز در سطح گسترده‌ای از گازهای شیمیایی بهره گرفت. گزارش نماینده دبیرکل سازمان ملل از بیمارستانهای اروپایی که مصدومین

شیمیایی در آنها بستری بودند (اسفند ۶۳ و فروردین ۶۴) حاکی از کاربرد گاز خردل گوگردی توسط عراق بود.

در ۵ اردیبهشت ۱۳۶۴، شورای امنیت سازمان ملل بدون ذکر نام عراق استفاده از سلاحهای شیمیایی را محکوم کرد. در ۲۱ مارس ۱۹۸۶ به دنبال گزارش هیئت مامور تحقیق دبیرکل سازمان ملل، دبیرکل و همچنین شورای امنیت این سازمان طی بیانیه‌ای به طور صریح دولت عراق را محکوم نمودند. در ۱۷ مارس ۱۹۸۸ دولت عراق در شهر حلبچه در سطحی گسترده از گازهای شیمیایی علیه مردم مظلوم عراق استفاده نمود. این اقدام وحشیانه ۵۰۰۰ کشته و هزاران تن مجروح را به دنبال داشت که ۷۵٪ آنان را زنان و کودکان تشکیل می‌داد.

جو سیاسی ناشی از کاربرد وسیع سلاحهای شیمیایی توسط عراق، موجب برپایی کنفرانس منع کاربرد سلاحهای شیمیایی (در تاریخ ۱۷-۲۱ دسامبر ۱۳۶۷) شد اما این کنفرانس از محکوم کردن عراق خودداری کرد. براساس اظهارات وزیر امور خارجه وقت کشورمان در این کنفرانس، استفاده رژیم عراق از گازهای شیمیایی در خلال جنگ تحمیلی، ۵۰ هزار مصدوم شیمیایی شدید و متوسط را در پی داشته که ۱۰٪ آنها به شهادت رسیده بودند. ۱۰ تا ۲۰٪ این مصدومین به واسطه گاز خردل، ۷۰ تا ۸۰٪ از عوامل عصبی و ۱۰٪ به دلیل استفاده از سیانور مصدوم شده بودند. بیش از نیمی از قربانیان غیرنظامی بودند (۹، ۱۰، ۱۳)

از دید نظامیان ضد بشر، عوامل شیمیایی ترکیباتی هستند که در عملیات