

Payame Noor University
Faculty Tehran

Thesis Submitted for the Award of Master of
M.A./M.Sc.....
Department of Biology

Title:

Evaluation of TGF- β and VEGF in tear
fluid of sulfur mustard gas-exposed
patients with eye's lesions

By:

Hoda Mostaghimi Tehrani
Supervisor: Dr.Majid Shohrati
Co-Supervisor:Dr.Reza Haji Hoseini

Jun ,2013

چکیده

هدف از این مطالعه مقایسه میزان $TGF-\beta$ و $VEGF$ در اشک چشم افراد مواجهه یافته با گاز خردل در جنگ ایران و عراق که دارای ضایعات چشمی مزمن هستند، با گروه کنترل سالم و گروه کنترل بیمار میباشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه ۲۵ نفر از افراد مواجهه یافته با گاز خردل که دارای عوارض چشمی مزمن به همراه خشکی چشم هستند با گروه شاهد، شامل ۲۵ فرد سالم و گروه کنترل که شامل ۲۵ نفر که دارای خشکی چشم بدون مواجهه با گاز خردل بودند، مورد ارزیابی قرار گرفتند و میزان $TGF-\beta$ و $VEGF$ در اشک چشم این ۳ گروه با روش الایزا و همچنین میزان پروتئین تام در اشک چشم هر سه گروه با روش برادفورد اندازه گیری شد.

نتایج: مقدار متوسط $TGF-\beta$ ($0.94 \pm 0.014 \text{ ng/ml}$) و $VEGF$ ($4.20 \pm 0.11 \text{ ng/ml}$) در اشک چشم مصدومین شیمیائی در مقایسه با گروه کنترل سالم ($TGF-\beta$ $0.12 \pm 0.021 \text{ ng/ml}$) و $VEGF$ ($3.70 \pm 0.023 \text{ ng/ml}$) و $TGF-\beta$ ($0.43 \pm 0.006 \text{ ng/ml}$) و $VEGF$ ($3.89 \pm 0.012 \text{ ng/ml}$) بالاتر است. همچنین مقدار متوسط پروتئین تام در اشک چشم گروه مصدومین در مقایسه با گروه کنترل سالم ($5.69 \pm 1.39 \text{ ng/ml}$) و گروه کنترل بیمار ($7.55 \pm 2.29 \text{ ng/ml}$) کمتر است.

بحث: علل پیشنهادی وجود فرایندهای التهابی، ضایعات فیبروتیک و آنژیوژنز در ضایعات چشمی جانبازان شیمیائی میتواند باعث التهاب اولیه مداوم که منجر به تولید میزان قابل توجهی $TGF-\beta$ و $VEGF$ میشود، باشد و یا تغییرات پایدار بعد از مواجهه منجر به تولید مداوم و بدون کنترل $TGF-\beta$ و $VEGF$ و به دنبال آن ایجاد التهاب و رگزایی شده باشند.

$VEGF$ و $TGF-\beta$

کلمات کلیدی: گاز خردل، فاکتور تغییر دهنده رشد بتا ($TGF-\beta$)، فاکتور رشد عروقی اندوتلیال ($VEGF$)

- فصل ۱: کلیات تحقیق
- بیان مساله
- فصل ۲: مبانی نظری و پیشینه تحقیق
- مروری بر مطالعات گذشته
- سولفورموستارد و مصدومین شیمیائی
- تاریخچه سولفور پوستارد
- خصوصیات فیزیکوشیمیائی سولفور پوستارد
- سنتز سولفور پوستارد
- مکانیسم عمل سولفور پوستارد
- سنتتیک سمیت سولفور پوستارد و بیومارکرهای مورد استفاده جهت تشخیص مسمومیت
- علائم بالینی - علائم زودرس
- علائم مزمن
- مشخصات پاتولوژیک
- فاکتور تغییر دهنده رشد
- ساخته شدن - ترشح $TGF-\beta$ و ذخیره آن در ماتریکس خارج سلولی
- رهاسازی $TGF-\beta$ از میکرو فیبریل ها - ماتریکس خارج سلولی و اتصال آن به گیرنده سطح سلولی
- مسیر پیام رسانی $TGF-\beta$
- نقش $TGF-\beta$ در هموستاز ماتریکس خارج سلولی
- فاکتور رشد عروقی اندوتلیالی
- چشم انسان
- اختلالات سیستم تولید کننده اشک
- اختلالات سیستم تخلیه کننده اشک
- سندرم چشم خشک
- علائم و نشانه های بالینی
- یافته های تشخیصی آزمون شیرمر

- اندازه گیری زمان از بین رفتن لایه اشک
- سایر روش ها
- عوارض
- درمان
- هدف کلی
- اهداف جزئی
- اهداف کاربردی
- سوالات
- فصل ۳: روش تحقیق
- نوع مطالعه - جامعه مورد مطالعه
- ملاحظات اخلاقی - مشکلات و محدودیت ها
- جدول متغیرها
- نمونه گیری - مراحل نمونه گیری اشک از چشم و آماده سازی آن جهت انجام تست الایزا
- انجام تست شیرمر
- نحوه نمونه گیری اشک
- نحوه استخراج اشک از اسفنج ها
- انجام تست الایزا - اندازه گیری VEGF
- محاسبه نتایج
- اندازه گیری $TGF-\beta$
- محاسبه نتایج
- سنجش میزان پروتئین تام در نمونه ها
- تهیه بافر برادفورد
- فصل ۴: یافته های تحقیق
- آنالیز آماری و نتایج
- نتایج
- بررسی فرضیه های مطرحی

- فرضیه ۱
- فرضیه ۲
- فرضیه ۳
- فصل ۵: جمع بندی و نتیجه گیری
- تفسیر نتایج و بحث
- پیشنهادات
- منابع
- واژه نامه

فصل ١

كليات تحقيق

بیان مسئله:

سولفور موستارد (بیس ۲- کلرواتیل سولفید)، SM¹، از مواد شیمیایی آلکیله کننده تاول‌زاست که تاکنون بیشترین استفاده را به عنوان اسلحه شیمیایی داشته است. استفاده از آن برای اولین بار در جنگ جهانی اول گزارش شد و پس از آن به طور متناوب در درگیریهای نظامی و به طور وسیع در جنگ ایران-عراق و علیه کردهای عراقی بین سالهای ۱۹۸۳ تا ۱۹۸۸ میلادی استفاده شده است (۱-۳). برعکس سایر مواد شیمیایی با میزان کشندگی بالا، مواجهه با SM بیشتر باعث عوارض درازمدت می‌شود بطوریکه تنها ۳ تا ۴٪ مرگ فوری ناشی از مواجهه با این گاز در جنگ ایران و عراق گزارش شده است (۴). برخورد با این گاز باعث ایجاد عوارضی می‌شود که تقریباً تمام مدت زندگی با مصدوم همراه بوده و در اکثر موارد به سمت ضایعات مزمن پیشروی می‌کند. سولفور موستارد بعد از جذب، کاتیونهای فعال نوکلئوفیل سولفونیوم را ایجاد می‌کند که باعث ایجاد رادیکالهای آزاد مخرب و فعال شدن بسیاری از مسیرهای التهاب در مراحل اولیه می‌شود (۵-۷). همچنین با اثر بر روی DNA باعث ایجاد تغییرات پایدار در بروز ژنهای دخیل در التهاب، آپوپتوز و چرخه سلولی می‌گردد (۸ و ۹). عوارض دیررس مواجهه با این گاز از نظر کلینیکی بررسی شده‌اند که به ترتیب ریه‌ها، پوست و چشم‌ها را شامل می‌شوند (۱۰-۱۲). یکی از نشانه‌های دیررس ضایعات ایجاد شده در این افراد تکثیر عروقی است که در ریه‌ها خود را به صورت پرولیفراسیون عروقی زمینه در

¹ sulfur mustard

ضایعات فیبروتیک نشان می‌دهد. (۱۱). این عوارض در ریه‌ها شامل برونشیت مزمن، آسم، برونشولیت اوبلیتران، برونشکتازی، باریک شدن راه‌های هوایی و فیبروز ریه هستند که با بیشتر شدن فاصله از زمان مواجهه، شروع ضایعات فیبروتیک و محدودکننده حجم‌های تنفسی بیشتر می‌شود (۱۵ و ۱۶). در ضایعات مزمن پوستی شامل خشکی شدید، هیپوپیگمانتاسیون، هیپریپیگمانتاسیون، آتروفی و هیپرتروفی نیز یکی از یافته‌های مشترک پاتولوژی، فیبروز غیراختصاصی درم است. از دیگر ضایعات مزمن پوستی با شیوع بالا *cherry angioma* است که حاکی از بروز یک عامل آنژیوژنیک در کنار عامل فیبروتیک در این ضایعات است (۱۱ و ۱۷). در چشم نیز ضایعات با پرولیفراسیون عروقی شروع شده و در نهایت باعث رسوب کلسیم در این ضایعات و از دست دادن دید می‌شود. (۱۱). همچنین قاسمی و همکاران (۱۹) در مطالعاتی بر روی جانبازان شیمیایی مواجهه با گاز خردل ضایعات چشمی دیررس در این افراد را به صورت، خشکی چشم، *MGD* (Meibomian Gland Dysfunction) و بلغاریت معرفی می‌کنند.

نکته مشترک در اکثر ضایعات مزمن این مصدومین وجود جزء فیبروتیک و آنژیوژنیک در اکثر موارد است که حاکی از اثر عوامل مستقیم فیبروتیک غیر از عوامل التهابی به تنهایی است. در روند ایجاد فیبروز سه عامل مهاجرت فیبروبلاستها، ساخت ماتریکس خارج سلولی و حفظ و دوباره‌سازی ماتریکس خارج سلولی نقش اصلی را ایفا می‌کنند. در این سه مورد سیتوکینها، کموکینها، فاکتورهای رشد و انواع پروتئازهای داخل و خارج سلولی دخیل هستند.

عدم تعادل در تولید یا مهار هر کدام از این موارد چه به طور اولیه به دلیل افزایش بیان ژنی و چه ثانویه به دلیل التهاب می تواند منجر به عدم تعادل در تولید ماتریکس خارج سلولی و ایجاد فیروز شود. یکی از عوامل مهم در هاجرت فیروبلاستها و تولید ماتریکس خارج سلولی β -TGF است (۱۸). در اکثر موارد وجود جزء آنژیوژنیک در ضایعات قسمتهای مختلف افراد مواجه شده با گاز خردل عامل تکثیر عروقی می باشد. تشکیل عروق جدید روندی چندمرحله ای است که با مشارکت فاکتورهای رشد و آنزیمهای مختلف به انجام می رسد. اولین مرحله، فعال شدن سلولهای آندوتلیال به واسطه فاکتورهای رشد از قبیل VEGF^۱ و β FGF^۲ است، مرحله اساسی بعدی هضم غشاء پایه و فراهم شدن مسیر مهاجرت سلولهای آندوتلیال فعال شده است که از نقاط کلیدی این مسیر بوده و به واسطه گروهی از ماتریکس متالوپروتینازها (MMPS) به نام ژلاتیناز انجام می شود. پس از آن مهاجرت سلولی روی می دهد و در این مرحله نیز ماتریکس متالو پروتینازها نقش اساسی در تخریب ماتریکس زمینه جهت رشد عروق دارند و بالاخره تمایز سلولهای آندوتلیال به عروق و تثبیت آنها با تمایز ماتریکس اطراف به لایه های دور عروقی است که در این مرحله مهارکننده ها ماتریکس متالوپروتینازها دارای نقش اساسی هستند. (۱۳).

عمل اصلی β -TGF در سیستم ایمنی مهار تکثیر و فعالیت لنفوسیت ها و سایر لکوسیت هاست. β -TGF به عنوان یک محصول توموری که محرک رشد سلول ها در محیط کشت

¹ **vascula endothelial growth factor**

² **fibroblast growth factor**

نیمه جامد بود کشف گردید. این سایتوکاین در حقیقت خانواده ای از مولکول های بسیار خویشاوند است که توسط ژن های مجزا رمزدهی میشوند و عبارتند از $TGF-\beta 1, TGF-\beta 2$, $TGF-\beta 3$. سلول های سیستم ایمنی غالباً $TGF-\beta 1$ را میسازند. (۲۰)

$TGF-\beta 1$ یک پروتئین همودایمر است که بصورت یک پیشتاز ساخته میشود و پس از شکستگی پروتئولیتیک فعال میگردد. این سایتوکاین توسط سلول های T فعال شده با آنتی ژن , بیگانه خوارهای تک هسته ای فعال شده با LPS و بسیاری از سلول های دیگر ترشح میشوند. برخی سلول های T تنظیم کننده $TGF-\beta$ تولید میکنند و همان طور ممکن است IL-10 نیز بسازند که همانند $TGF-\beta$ دارای فعالیت های سرکوب ایمنی است . پذیرنده های $TGF-\beta$ عبارتند از دو پذیرنده پلی پپتیدی با میل پیوندی با که پیام خود را از طریق یک دومن سرین- تره ثونین کیناز که عوامل نسخه برداری به نام SMSD را فسفریله می کند ارسال می نماید. (۲۰)

$TGF-\beta$ تکثیر و تمایز سلول های T و فعالیت ماکروفاژها را مهار میکند. $TGF-\beta$ بر سایر سلول ها نظیر نوتروفیل ها و سلول های اندتلیال نیز اثر میکند و تا حد زیادی اثرات سایتوکاین های پیش برنده التهاب را خنثی می نماید. $TGF-\beta$ با این عمل در راستای مهار پاسخ های ایمنی و التهابی عمل می کند. (۲۰) موش هایی که ژن $TGF-\beta 1$ آنها تخریب شده است دچار ضایعات التهابی و لنفوپرولیفراسیون کنترل نشده می شوند. $TGF-\beta$ تولید آنتی بادی های IgA را در سلول های B القا میکند که این آنتی بادی برای ایمنی مخاطی مورد نیاز است.

TGF- β فعالیت های گوناگونی خارج از سیستم ایمنی دارد. این سایتوکاین تکثیر بعضی گونه های سلولی را مهار میکند و محرک تکثیر سلول های دیگر است. TGF- β اغلب میتواند رشد یک نوع سلول را در شرایط آزمایشگاهی بسته به شرایط محیط کشت مهار یا فعال نماید. TGF- β سازنده پروتئین های زمینه خارج سلولی نظیر کلاژن ها ، از آنزیم های اصلاح کننده ماتریکس از قبیل متالوپروتئین های ماتریکس و پذیرنده های سلولی پروتئین های زمینه ای از جمله اینتگرین ها است. این اعمال ممکن است محرک ترمیم بافتی پس از واکنش های موضعی ایمنی و التهابی باشند. (۲۰)

به طور کلی به نظر می رسد که حفظ تعادل در ماتریکس خارج سلولی و عدم بروز حالت های پاتولوژیک، فیبروتیک و آتروفیک نیازمند حفظ تعادل در میزان TGF- β و MMPs ، TIMPs است. مطالعات مختلف نشان داده اند که از بین رفتن این تعادل می تواند منجر به بیماری های مختلف از جمله فیروز شود. آمار گولات و همکاران در مطالعه ای افزایش فعالیت MMP را در فیروز قلبی ناشی از فشار خون بالا دانسته اند (۲۱) این عدم تعادل در فیروز مغز استخوان در لوسمی های میلوئیدی به خصوص در میلوئید متاپلازی با میلو فیروز (۲۲) در فیروز کبدی، بیماری سیروز (۲۳) در بیماری های پوستی همراه با فیروز (۲۴) در فیروز پوستی بعد از سوختگی (۲۵) و در بیماری های اتوایمون همراه با فیروز و اختلالات دژنراتیو شامل روماتوئید آرتریت، اسپوندیلیت آنکیلوزان و لوپوس اریتروماتوزیس دیده شده است (۲۶ و ۲۷)

همانطور که در ابتدای بحث اشاره شد از اثرات مواجهه با گاز سولفورمستارد ضایعات چشمی است که شدت آسیبهای ناشی از SM وابسته به دوز و زمان مواجهه با سم می‌باشد. همچنین مدت زمانی که طول می‌کشد تا علائم بروز کنند به غلظت SM و حساسیت افراد مواجهه یافته بستگی دارد. عوارض چشمی ناشی از SM به سه صورت عوارض حاد، مزمن و دیررس بروز مینمایند.

عوارض حاد چشمی چند دقیقه بعد از تماس با سم حتی در دوزهای پایین بروز مینماید. به هر حال بروز عوارض و علائم چشمی سریعتر از علائم پوستی است و تقریباً در همه مصدومین تحریک و قرمزی چشمها دیده می‌شود. افزایش دوز گاز، منجر به ایجاد التهاب حاد ملتحمه، ترس از نور، اسپاسم عضلات پلک و آسیب قرنیه می‌گردد. آسیب قرنیه شامل ادم، تورم، ارتشاح سلولهای پلی مورفونوکلئر و کدورت قرنیه می‌باشد که این آسیب موجب نقص در قدرت بینایی فرد می‌شود. واسکولاریزاسیون قرنیه (که منجر به ایجاد پانوس می‌شود) و ادم ثانویه برای هفته‌ها باقی می‌ماند و ایجاد پانوس نیز می‌تواند منجر به کدر شدن قرنیه شود. اگر پانوس محور بینایی را بپوشاند فرد نابینا خواهد شد. بدنبال این حوادث ممکن است مابین عنیبه و عدسی اسکارهائی ایجاد شود که حرکات مردمک را محدود ساخته و فرد را مستعد گلوکوم می‌نماید (۲۸). درصد بالائی از مصدومینی که ضایعات حاد چشمی داشته‌اند دچار عوارض مزمن می‌گردند و بنابر گزارشات موجود اکثر این بیماران خشکی چشم (Dry eye) دارند (۲۹). در عوارض دیررس چشمی بیماران پس از طی یک دوره طولانی مدت ۱۰ تا ۲۵ ساله ممکن است دچار

زخمهای قرنيه مکرر يا مقاوم شوند و به دنبال آن کراتوپاتی، کونژکتویت مزمن و تیرگی قرنيه نیز ایجاد می‌شود (۳۰ و ۳۱). در ادامه عوارض چشمی ناشی از سولفورموستارد باید به ایجاد پلاکهای فیبری در ملتحمه و عروق واریسی و پیچ خورده ملتحمه، سینشی خلفی، خراشهای واضح قرنيه و لیمبوس و سوراخ شدگی قرنيه نیز اشاره کرد (۳۲). تقریباً ۰.۵ درصد مجروحان با آسیب جدی، عوارض دیررس چشمی را بروز می‌دهند که نیاز به مراقبت و درمانهای چشم پزشکی طولانی دارند (۳۳)

تاکنون تنها بیان پروتئینی یکی از ایزوفرم های $TGF\beta$ در نمونه های ریوی مصدومین با کمک الایزا بررسی شده است. در این بررسی که توسط قانعی و همکاران انجام شده، مشخص شده است که مقدار پروتئین این ژن در نمونه BAL ریوی مصدومین افزایش یافته است. اما تایید این بیان در سطح mRNA و تایید صحت عملکرد و ساختمان پروتئینی حاصل از این ژن و ژنهای پایین دست این ژن و تاثیرات احتمالی که این در ایجاد و یا پیشرفت بیماری میتواند داشته باشد هنوز مطالعه نشده است (۳۴)

مطالعه بر روی کشت سلولهای فیبروبلاست نشان داده که تاثیر $TGF\beta$ سبب افزایش بیان ژنهای TIMP1,2,3 (مهار کننده های بافتی کلاژنازها) و کاهش بیان کلاژنازهای 13 و 8 و 1 MMP و ژلاتیناز های MMP2 و MMP9 شده و به نظر میرسد که بدین ترتیب میتواند سبب افزایش میزان کلاژن و القای فیروزه و یا اختلال در عملکرد طبیعی بافت شود (۳۵)

بررسی های مختلف نشان داده است که $TGF-\beta$ را می توان به عنوان یک هدف درمانی موثری در نظر گرفت، به طوری که در مطالعات *in vitro* نشان داده شده است مهار $TGF-\beta$ منجر به کاهش تجمع ماتریکس خارج سلولی و بهبود علائم فیروز می شود. در حال حاضر استفاده از آنتی بادی های مونوکلونال جهت ختنی نمودن $TGF-\beta$ در فاز دو کلینیکی در حال بررسی است (۳۶) در مطالعه ای که توسط قانعی و همکاران انجام شد با استفاده از تکنیک ELISA افزایش میزان پروتئین $TGF-\beta 1$ در مایع برونشوی آلوئولی (BAL) مصدومین شیمیائی نشان داده شد (۳۴)

با توجه به ارتباط موجود بین $TGF-\beta$ به عنوان تحریک کننده TIMP ها و VEGF به عنوان عامل تحریکی در شروع رگزایی و تحریک MMPها لازم بر ان دیدیم که جهت مشخص شدن هرچه بهتر مسیر ایجاد آسیب های چشمی توسط گاز خردل این دو کمیت در اشک چشم جانبازان شیمیایی مورد بررسی قرار گیرد.

فصل ۲

مبانی نظری و پیشینه تحقیق

مروری بر مطالعات گذشته

- سولفور موستارد و مصدومین شیمیائی:

- تاریخچه سولفور موستارد:

گاز خردل یا سولفور موستارد (SM) (بیس ۲-کلرو اتیل سولفید)^۱ برای اولین بار به دنبال مطالعات مربوط به برهمکنش ترکیبات اولفین و سولفور هالوژن^۲ به طور تصادفی توسط دسپرتز^۳ کشف شد. سپس در سال ۱۸۶۰ گوتتری^۴ در انگلستان و نیمن^۵ در آلمان توانستند گاز خردل را تولید کنند (۳۷). سولفور موستارد عامل تاول زائی است که استفاده از آن به عنوان جنگ افزار شیمیائی، مهمترین کاربرد آن محسوب میشود (۳۸). برای اولین بار ارتش آلمان از گاز خردل در جنگ جهانی اول (سال ۱۹۱۷) علیه ارتش فرانسه استفاده کرد و حدود ۷۰ درصد آسیب های حاصل از جنگ افزار های شیمیائی مورد استفاده در این جنگ مربوط به گاز خردل بود (۳۹). جنگ های دیگری که از سولفور موستارد در آنها استفاده شد عبارتند از: ایتالیا علیه اتیوپی (۱۹۳۶)، ژاپن علیه چین (۱۹۳۷)، لهستان علیه آلمان (۱۹۳۹) و مصر علیه یمن (۱۹۶۳ تا ۱۹۶۷) (۴۰). آخرین استفاده نظامی از آن در جنگ ایران و عراق (۱۹۸۰-۱۹۸۸) بود که توسط رژیم بعث عراق علیه افراد نظامی و غیر نظامی مورد استفاده قرار گرفت

¹ Sulfur mustard (bis(2-chloroethyl)sulphide)

² Olefins and Sulphur Halogen compounds

³ Despretz

⁴ Guthrie

⁵ Niemann

و سبب مصدوم شدن حدود ۱۰۰۰۰۰ نفر گردید (۴۱). در حال حاضر یک سوم این تعداد از ناراحتی های ثانویه حاصل از این گاز رنج میبرند (۴۲). علاوه بر کاربرد نظامی، سولفور موستارد و آنالوگ های آن دارای کاربرد های درمانی نیز می باشند و اثرات سیتوتوکسیک آنها برای اولین بار در سال ۱۹۸۴ در درمان سرطان مورد استفاده قرار گرفته است (۴۳).

- خصوصیات فیزیکی شیمیائی سولفور موستارد:

مایع روغنی بی رنگ کم محلول در آب (۰.۰۷٪ در ۱۰CC) و بسیار محلول در حلالهای اورگانیک، سوختها و لوبریکانتها به رنگ زرد روشن تا قهوه ای تیره با بوی پیاز سیر یا خردل. ناپایداری کم با حلالیت پایین در آب باعث بقای بیشتر ترکیب در محل میشود. زمین و تمام چیزها مثل مواد غذایی خلل و فرج دار رنگ و پوششهای ورنی برای مدتهای طولانی بخصوص در آب و هوای سرد و مرطوب آلوده به SM خواهد شد. فرمول و بعضی خصوصیات SM در جدول زیر نشان داده شده است.

سولفور موستارد (SM) خالص به صورت مایع شفاف، بی رنگ و تقریباً بدون بوئی است. خصوصیات فیزیکی شیمیائی این گاز در جدول ۱-۱ خلاصه شده است (۴۴). سرعت نفوذ گاز خردل مایع در سیستم *in vitro* (پوست انسان) برابر با $71-294 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ و در سیستم *in vivo* (در افراد داوطلب) برابر با $60-240 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ میباشد که در هر دو شرایط مقادیر تقریباً مساوی هستند (۴۵). مقدار ۲۰ میکرو گرم بر سانتی متر مربع از سولفور موستارد مایع قادر به ایجاد تاول بر روی پوست میباشد (۴۶)، ولی تنها مقدار ۴ میکرو گرم بر

سانتی متر مربع از گاز سولفور موستارد برای این منظور کافی است. این تفاوت آشکار ممکن است که بدلیل تبخیر ۸۰ درصدی سولفور موستارد مایع قبل از نفوذ به پوست باشد (۴۷, ۴۸). بنابراین این حضور در فضای بسته و دمای بالا میتواند سبب افزایش چشمگیر میزان نفوذ سولفور موستارد به پوست شود (۴۹).

جدول ۱-۲. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی سولفور موستارد

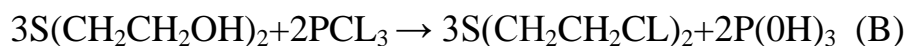
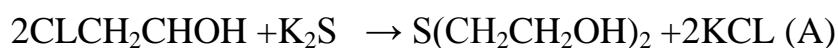
		Sulphur mustard
Appearance	Distilled Technical grade	Yellow, oily liquid
Odour		Nearly no odour Garlic, mustard
Molecular weight		159.08
Density		1.27 (specific gravity)
Solubility		Very hydrophobic
Freezing point		14.45 °C (HD)
Boiling point		215–217 °C
Volatility (mg/m ³ , 20 °C)		610
Persistence		High (days–weeks) stable during rain because of slow hydrolysis

- سنتز سولفور موستارد:

ویکتور میر اولین بار SM خالص را بوسیله واکنش تیودی گلیکول با تری کلرید

فسفر تهیه کرد (B). تیودی گلیکول را از واکنش ۲-کلرو اتانل با سولفید پتاسیم بوجود

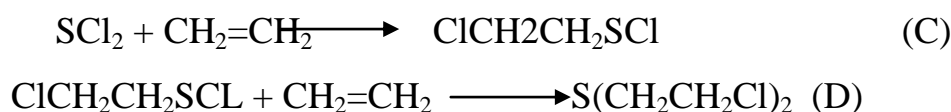
آورد (A)



اسید هیدروکلریک غلیظ و تیونیل کلراید و فسفوژن همگی به جای تری کلراید فسفر

استفاده شدند. تیودی گلیکول با یک پروسه آمریکایی نیز قابل تهیه است. که در آن اتیل اکساید

با سولفید هیدرژن واکنش می‌دهد. SM برای استفاده جنگی با پروسه Leveinstein ساخته شد. واکنش بین سولفور دی کلرید و اتیلن. واکنشهای اصلی افزوده شدن سولفور دی کلراید به اتیلن برای تشکیل ۲ کلرواتیل سولفنیل کلراید (C) و اضافه شدن آن به ملکول دوم اتیلن (D) میباشد



- مکانیسم عمل سولفور موستارد :

امروزه عقیده بر این است که عوارض ناشی از سولفور موستارد به دلیل خاصیت آلکیله کننده^۱ آن میباشد. این گاز قادر است با اجزای مختلف سلولی شامل DNA, RNA, پروتئین و غشاهای لیپیدی واکنش داده و آنها را آلکیله کند. این واکنش ها میتواند منجر به نقص های متابولیکی و ژنتیکی در سلول شود (۵۰). هر یک از زنجیره های جانبی کلرو اتیل در مولکول سولفور موستارد می توانند در اثر حلقوی شدن داخل مولکولی^۲، یون کلرید را آزاد کرده و فعال شوند. سپس حد واسط کاتیونی اتیلن سولفونیوم^۳ باز شده و کربانیوم بسیار فعالی را ایجاد میکند که قادر است بلافاصله با اجزای نوکلئوفیلی همچون DNA (شکل ۱-۱) RNA، پروتئین و سایر مولکولها واکنش دهد (شکل ۱-۲). سولفور موستارد با گلوتاتیون^۴ (GSH) داخل سلولی واکنش داده و سبب اتمام یا کاهش میزان آن در داخل سلول میشود. با

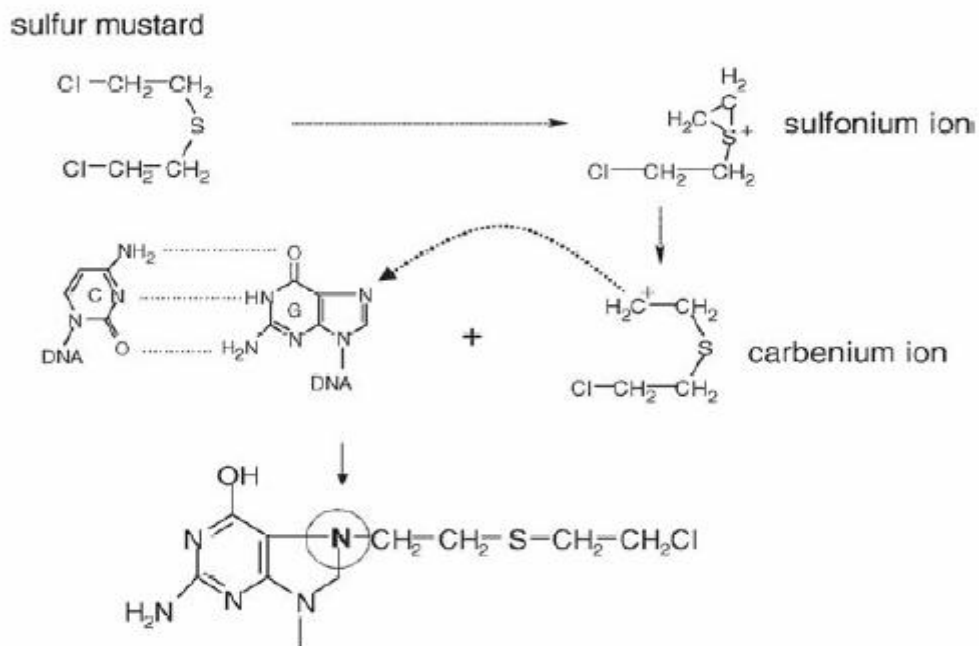
¹ Alkylation

² Intramolecular cyclisation

³ Ethylene sulfonium cation intermediate

⁴ Glutathione

کاهش GSH، میزان گونه های فعال اکسیژن^۱ افزایش پیدا می کند که به نوبه خود منجر به پر اکسیداسیون غشاهای لیپیدی می شود.



شکل ۱-۲. واکنش سولفور موستارد با DNA. یون کربانیوم حاصل از باز شدن حد واسط کاتیونی اتیلن سولفونیوم به طور عمده با N7 نوکلئوتید گوانین در ماکرومولکول DNA واکنش میدهد (۴۲).

به نظر می رسد که هسته سلول بیشترین حساسیت را نسبت به سولفور موستارد داشته باشد. واکنش با DNA، مهمترین واکنش SM محسوب می شود، به طوری که ۶۱ درصد کل واکنش

¹ Reactive Oxygen Species