

## اثرات درمانی و محافظتی هگزامتیلن تترآمین بر پارانشیم ریه پس از آلودگی به دو دوز متفاوت از سولفورموستارد در موش صحرایی نر در مرحله حاد

زهرا عبدی<sup>۱</sup>، دکتر سیدهمايون صدرایی<sup>۲</sup>، دکتر محمدحسین اکبری حسینی<sup>۳</sup>، سکینه حاجی میری<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت 29 خرداد 1390 تاریخ پذیرش: 30 تیر 1390

### چکیده

**پیش زمینه و هدف:** سولفورموستارد عامل شیمیایی تاول‌زا می‌باشد که به عنوان یک تهدید نظامی به‌شمار می‌رود. استنشاق سولفورموستارد باعث التهاب راه‌های تنفسی، آسیب به بافت اپی تلیال ریه می‌گردد. اثر حفاظتی هگزامتیلن تترآمین بر سلول‌های ریه انسان در برابر سولفورموستارد گزارش شده است. همچنین اثرات مثبت آن در برابر فُسژن موثر بوده است. هدف بررسی میزان تاثیر هگزامتیلن تترآمین بر پارانشیم بافت ریه آلوده به سولفورموستارد می‌باشد.

**مواد و روش کار:** ۴۲ سر موش صحرایی نر از نژاد Albino Wistar به وزن  $20 \pm 20$  گرم به صورت تصادفی به هشت گروه شامل: ۱- نرمال سالین (NS)، ۲- HMT، ۳- (HD<sub>1</sub>)، ۴- (Pre<sub>1</sub>)، ۵- (Post<sub>1</sub>)، ۶- (HD<sub>2</sub>)، ۷- (Pre<sub>2</sub>)، ۸- (Post<sub>2</sub>) تقسیم شدند. گروه‌های HD<sub>1</sub>، Pre<sub>1</sub>، HD<sub>2</sub>، Pre<sub>2</sub>، Post<sub>1</sub>، Post<sub>2</sub> سولفورموستارد ۰/۵ درصد و HD<sub>2</sub>، Pre<sub>2</sub>، Post<sub>2</sub> سولفورموستارد ۰/۲۵ درصد و NS نرمال سالین را به صورت داخل تراشه‌ای دریافت نمودند. گروه‌های ۲، ۴، ۵، ۷، ۸ روزانه دارو را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند، بعد از ۱۴ روز کشته و پردازش بافتی انجام گرفت. عوارض ریوی همانند ادم، کلاپس و خونریزی ریوی درجه‌بندی و نتایج ثبت گردید.

**یافته‌ها:** بین گروه‌های N.S و HMT در پارامترهای پاتولوژیکی اختلاف معنی‌دار وجود نداشت. میزان ادم، کلاپس، خونریزی ریوی وابسته به دوز سولفورموستارد می‌باشد و در دوز بالا آسیب‌های شدید در ریه مشاهده گردید. میزان آن در گروه‌های درمانی و محافظتی نسبت به گروه‌های HD کاهش یافته، همچنین در گروه‌های درمانی به‌طور معنی‌دار نسبت به محافظتی کاهش یافته است.

**نتیجه گیری:** هگزامتیلن تترآمین دارای اثرات محافظتی و درمانی بر بافت ریه می‌باشد.

**کلید واژه‌ها:** سولفورموستارد، بافت ریه، موش صحرایی، هگزامتیلن تترآمین

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره چهارم، ص ۳۳۸-۳۲۹، مهر و آبان ۱۳۹۰

آدرس مکاتبه: زنجان، بیمارستان امام حسین (ع)، نمابر: ۰۲۴۱-۵۲۶۴۰۰۰

Email:anatomy.master@yahoo.com

### مقدمه

به میزان دوز از ناحیه موکوس بینی تا برونشیول‌های انتهایی را درگیر می‌کند (۳). در دوزهای پایین استنشاق سولفورموستارد بعد از یک دوره زمانی بدون علامت، با التهاب موکوس بینی، خس خس سینه، عطسه و سرفه شروع شده و ریتم تنفسی نیز به هم می‌خورد (۲).

سولفورموستارد<sup>۱</sup> یک عامل الکیله کننده می‌باشد که باعث ایجاد طیفی از پاسخ‌های سمی در افرادی که در معرض این ماده قرار گرفته‌اند می‌گردد (۱). دستگاه تنفسی به تماس با سولفورموستارد خیلی حساس می‌باشد (۲). علائم تنفسی بسته

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد علوم تشریح، کارمند بیمارستان امام حسین (ع) زنجان (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> دکترای علوم تشریح، استادیار دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)

<sup>۳</sup> متخصص پاتولوژی بیمارستان بقیه ا... (عج). استاد یار دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)

<sup>۴</sup> کارشناس زیست شناسی

<sup>۵</sup> (bis-2-chloroethyl) sulphid

است (۱۶). همچنین HMT دارای اثرات محافظتی بر سلول‌های بدن در برابر عامل شیمیایی فسژن بوده است (۱۷). هدف از این مطالعه بررسی اثرات درمانی و محافظتی هگزامتیلن تتراآمین برپارانیشیم ریه موش‌های نر صحرایی آلوده به سولفور موستارد می‌باشد.

### مواد و روش کار

در این تحقیق تعداد ۴۲ سرموش بزرگ صحرایی نر نژاد Wistar، سه ماهه از موسسه تحقیقاتی پاستور به وزن  $200 \pm 20$  گرم تهیه گردید. حیوانات در شرایط استاندارد از نظر غذا، نور، آب و حرارت نگهداری شدند. سپس به صورت تصادفی در هشت گروه قرار گرفتند.

سولفورموستارد (تهیه شده از وزارت دفاع و پشتیبانی نیروهای مسلح) به صورت محلول ۰/۵ درصد (سولفورموستارد به میزان ۰/۵ میکرولیتر در ۱۰۰ میکرولیتر نرمال سالین) و ۰/۲۵ درصد (سولفورموستارد به میزان ۰/۲۵ میکرولیتر در ۱۰۰ میکرولیتر نرمال سالین) آماده گردید (۱۸) و داروی هگزامتیلن تتراآمین<sup>۱</sup> از شرکت سینا دارو تهیه شد.

گروه اول (NS): میزان  $100 \mu\text{l.kg}$  نرمال سالین<sup>۲</sup> به صورت داخل تراش‌های تحت بیهوشی با استفاده از کاتتری به ضخامت 1.5 mm و طول ۵ سانتی‌متر یکبار تزریق شد. (۵ سر موش).

گروه دوم (HMT): میزان 7.5 mg.kg داروی HMT به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۷ سر موش).

گروه سوم (HD<sub>۱</sub>): محلول سولفورموستارد ۰/۵ درصد به میزان  $100 \mu\text{l.kg}$  به صورت داخل تراش‌های تنها یکبار تزریق شد (۵ سر موش).

گروه چهارم (Pre-exposure (Pre1): جهت حفاظت از بافت ریه در برابر سولفورموستارد، یک ساعت قبل از دریافت محلول سولفور موستارد. ۰/۵ درصد، داروی HMT به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۵ سر موش).

گروه پنجم (Post<sub>۱</sub> -exposure (Post): به منظور درمان سریع با HMT پس از مواجهه حیوانات با سولفورموستارد، ۱۰ دقیقه بعد از دریافت محلول سولفورموستارد. ۰/۵ درصد، داروی HMT به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۵ سر موش).

گروه ششم (HD<sub>۲</sub>): محلول سولفورموستارد ۰/۲۵ درصد به میزان  $100 \mu\text{l.kg}$  به صورت داخل تراش‌های تنها یکبار تزریق شد. (۵ سر موش).

استنشاق دوزهای متوسط باعث اشک ریزی، آب ریزش بینی، آسیب حنجره‌ای (گرفتگی صدا، صدای خشن) خس خس سینه، از بین رفتن حس چشایی و بویایی، تخریب موکوس ناحیه بینی و گلو می‌شود. همچنین علائمی از آسیب به راه‌های هوایی تحتانی همانند تراکتوبرونشیت، سرفه‌های دردناک و خشک، سرفه‌های شدید همراه با خلط چرکی دیده می‌شود (۳،۲). در استنشاق دوزهای بالای از سولفورموستارد، سلول‌های اپی تلیال دستگاه تنفسی فوقانی ریزش پیدا کرده که این همراه با ادم اطراف برونش، پرخونی عروق خونی، ارتشاح سلول‌ها در لایه ساب موکوس، واکوئل شدن و به هم‌ریختگی سیتوپلاسم و ساختار هسته می‌باشد که باعث خون‌ریزی ریوی، ادم ریوی و نقص تنفسی و علائم شبیه سندرم دیسترس تنفسی می‌گردد (۱). در مواجهه با دوزهای شدیدتر ادم در ناحیه راه‌هایی هوایی فوقانی و تحتانی همراه با زخم و نکروز، ادم ریوی و التهاب تنفسی دیده می‌شود (۲).

تحقیقات نشان داده است که پس از مواجهه ریه موش با سولفورموستارد تجمع سلول‌های التهابی و واکنش‌های التهابی شروع شده و ۴۸ ساعت پس از آن به حداکثر میزان خود می‌رسد و بعد از هفت روز واکوئوله شدن و تورم سلول‌های پارانیشیم بافت ریه مشاهده گردیده است (۴). مطالعات کمی در مدل‌های حیوانی (۶،۵) و آزمایشگاهی (۸،۷) بر سلول‌های اپی تلیال تنفسی به‌عنوان هدف اصلی سولفورموستارد انجام گرفته است. در کارگران ژاپنی کارخانجات تولید کننده گازهای شیمیایی افزایش مرگ در اثر بیماری‌های ریوی و همچنین افزایش برونشیت مزمن گزارش شده است (۹). Manning و همکارانش نشان داده‌اند که پنومونی تنها علت مرگ در کارگران در کارخانجات تولید سولفورموستارد در انگلیس بوده است (۱۰). عده‌ای از محققین نیز نتایج مشابهی در مورد اثرات گاز موستارد در ریه نشان داده‌اند (۱۲،۱۱).

مطالعات انسانی نشان می‌دهد که سولفورموستارد باعث تنگی نفس، خس خس سینه، آزرده‌گی حنجره، تخریب مخاط بینی و تنفسی و برونشیت همراه با نکروز مخاط گردیده است (۱۳). استنشاق مقادیر زیاد سولفورموستارد باعث تخریب اپی تلیوم تنفسی می‌شود (۱۴،۱).

هگزامتیلن تتراآمین<sup>۱</sup> دارویی با خاصیت ضد التهابی و ضد باکتریایی می‌باشد. HMT در ساختار خود دارای ۴ اتم نیتروژن نوکلئوفیلیک است که به نظر می‌رسد توانایی واکنش با سولفورموستارد را داشته و اثرات سوء آن را بر سلول‌های بدن کاهش می‌دهد (۱۶،۱۵،۸). اثرات محافظتی HMT در محیط کشت بر سلول‌های نوموسیت II آلوده به سولفورموستارد گزارش شده

<sup>۲</sup> HMT

<sup>۳</sup> Normal Saline

<sup>۱</sup> Hexamethylenetetramine (HMT)

الف- اگر میزان بسته شدن یا روی هم قرار گرفتن دیواره‌های بین آلوئولی ۲۵-۰ درصد از کل سطح نمونه برش خورده بود درجه یک (نرمال) در نظر گرفته شد.

ب- اگر میزان بسته شدن یا روی هم قرار گرفتن دیواره‌های بین آلوئولی ۵۰-۲۵ درصد از کل سطح نمونه برش خورده بود درجه دو (خفیف) در نظر گرفته شد.

ج- اگر میزان بسته شدن یا روی هم قرار گرفتن دیواره‌های بین آلوئولی ۷۵-۵۰ درصد از کل سطح نمونه برش خورده بود درجه سه (متوسط) در نظر گرفته شد.

د- اگر میزان بسته شدن یا روی هم قرار گرفتن دیواره‌های بین آلوئولی ۱۰۰-۷۵ درصد به کل سطح نمونه برش خورده بود درجه چهار (شدید) در نظر گرفته شد.

#### خون‌ریزی ریوی<sup>۳</sup>

برای درجه‌بندی خون‌ریزی ریوی از بزرگنمایی  $\times 1000$  استفاده گردید. در این مورد تعداد RBCهای موجود در فضای آلوئولی ملاک عمل قرار گرفت.

الف- اگر در یک فضای آلوئولی تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) کم‌تر یا برابر تعداد هسته‌های موجود در دیواره آلوئولی باشد درجه یک (خفیف) (۲۵-۰%) می‌باشد.

ب- اگر در یک فضای آلوئولی تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) بیشتر از یک تا دو برابر تعداد هسته‌های موجود در دیواره آلوئولی باشد درجه دو (متوسط) (۵۰-۲۵%) می‌باشد.

ج- اگر در یک فضای آلوئولی تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) سه برابر تعداد هسته‌های موجود در دیواره آلوئولی باشد درجه سه (شدید) (۷۵-۵۰%) می‌باشد.

د- اگر در یک فضای آلوئولی تعداد گلبول‌های قرمز (RBC) چهار برابر یا بیشتر از تعداد هسته‌های موجود در دیواره آلوئولی باشد درجه چهار (شدیدتر) (۱۰۰-۷۵%) می‌باشد.

### نتایج هیستوپاتولوژی

بررسی نتایج ادم ریوی:

بررسی نتایج حاصل نشان داد که در گروه‌های N.S و HMT هیچگونه ادم ریوی مشاهده نشده (عکس ۱). ولی در گروه HD<sub>1</sub> میزان ادم ریوی ۷۵/۳۰ درصد مشاهده گردید (عکس ۲). در گروه Pre<sub>1</sub> میزان ادم ریوی ۱۷ درصد می‌باشد که این امر نشانگر کاهش ادم ریوی در گروه Pre<sub>1</sub> در مقایسه با HD<sub>1</sub> می‌باشد (عکس ۳).

بررسی ادم ریوی در گروه Post<sub>1</sub> نشان داد که ادم ریوی ۱۳/۵ درصد می‌باشد. که نشانگر کاهش ادم ریوی در گروه Post<sub>1</sub>

گروه هفتم (Pre<sub>2</sub>-Pre-exposure): جهت حفاظت از بافت ریه در برابر سولفورموستارد، یک ساعت قبل از دریافت محلول سولفورموستارد. ۲۵/۰ درصد، داروی HMT به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۵ سر موش).

گروه هشتم (Post<sub>2</sub>-Post-exposure): به منظور درمان سریع با HMT پس از مواجهه حیوانات با سولفورموستارد، ۱۰ دقیقه بعد از دریافت محلول سولفورموستارد. ۲۵/۰ درصد، داروی HMT به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۵ سر موش). (میزان محلول سولفورموستارد (۱۰۰  $\mu$ l.kg) و دارو (7.5mg.kg) در گروه‌های فوق یکسان می‌باشد).

گروه‌های ۸، ۷، ۴، ۲، به مدت ۱۴ روز، هر روز یک‌بار HMT را به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. بعد از گذشت ۱۴ روز حیوانات کشته شده و از ناحیه قاعده لوب خلفی ریه راست به اندازه ۵ میلی‌متر مکعب نمونه برداری شد. نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید و پس از انجام پردازش بافتی، مقاطع ۵ میکرونی از نمونه‌ها تهیه شد و برای بررسی بافت ریه از رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین استفاده گردید.

اسلایدهای تهیه شده از بافت ریه توسط متخصص پاتولوژی با استفاده از میکروسکوپ نوری Zenit مورد بررسی قرار گرفتند. عوارض ریوی همانند ادم ریوی، کلاپس ریوی و خون‌ریزی ریوی در نظر گرفته شد. سپس این عوارض به تفکیک درجه‌بندی (Grade) شده و در جداول مربوطه نتایج هر یک از نمونه‌ها ثبت گردید. ادم ریوی<sup>۱</sup>:

برای درجه‌بندی ادم ریوی از بزرگنمایی  $\times 400$  استفاده شد. در این مورد ضخامت دیواره‌های بین آلوئولی ملاک عمل قرار گرفت. الف- اگر ضخامت دیواره آلوئولی به اندازه قطر یک هسته سلولی باشد درجه یک (نرمال) (۲۵-۰%) می‌باشد.

ب- اگر ضخامت دیواره آلوئولی به اندازه قطر دو هسته سلولی باشد درجه دو (خفیف) (۵۰-۲۵%) می‌باشد.

ج- اگر ضخامت دیواره آلوئولی به اندازه قطر سه هسته سلولی باشد درجه سه (متوسط) (۷۵-۵۰%) می‌باشد.

د- اگر ضخامت دیواره آلوئولی به اندازه قطر چهار هسته سلولی یا بیشتر باشد درجه چهار (شدید) (۱۰۰-۷۵%) محسوب می‌شود. کلاپس ریوی<sup>۲</sup>:

برای درجه‌بندی کلاپس ریوی از بزرگنمایی  $\times 400$  استفاده شد. در این مورد چون بافت ریه نرمال پس از جدا شدن از بدن دچار کلاپس می‌شود درجه‌بندی بر اساس موارد زیر انجام گردید.

<sup>1</sup> Pulmonary Edema

<sup>2</sup> Pulmonary Collaps

<sup>3</sup> Pulmonary Hemorrhage

بین گروه‌های N.S و HMT با گروه Pre<sub>1</sub> افزایش خون‌ریزی ریوی را نشان می‌دهد (عکس ۱۳). مقایسه نتایج گروه Pre<sub>1</sub> با HD<sub>1</sub> نشان دهنده کاهش میزان خون‌ریزی ریوی در گروه Pre<sub>1</sub> می‌باشد.

بررسی نتایج خون‌ریزی ریوی گروه Post<sub>1</sub> نشان داد که ۱۰۰ درصد نمونه‌ها از نظر خون‌ریزی ریوی طبیعی می‌باشند. مقایسه نتایج این گروه با گروه‌های HD<sub>1</sub> و Pre<sub>1</sub> نشان دهنده کاهش خون‌ریزی ریوی در گروه Post<sub>1</sub> نسبت به گروه‌های Pre<sub>1</sub> و Post<sub>1</sub> می‌باشد (عکس ۱۴).

بررسی نتایج گروه HD<sub>2</sub> نشان داد که ۲۷/۵ درصد نمونه‌ها دچار خون‌ریزی ریوی بوده‌اند. مقایسه نتایج این گروه با گروه N.S و HMT افزایش خون‌ریزی ریوی را در این گروه نشان می‌دهد و مقایسه نتایج گروه HD<sub>2</sub> با HD<sub>1</sub> نشانگر کاهش میزان خون‌ریزی ریوی در گروه HD<sub>2</sub> می‌باشد (عکس ۱۵). نتایج گروه Pre<sub>2</sub> نشان داد که ۱۷ درصد نمونه‌ها دچار خون‌ریزی ریوی بوده‌اند که در مقایسه با گروه N.S و HMT افزایش خون‌ریزی ریوی مشاهده شد ولی در مقایسه با گروه HD<sub>2</sub> کاهش خون‌ریزی مشهود می‌باشد.

از سوی دیگر نتایج گروه Post<sub>2</sub> نشان داد که ۱۲/۵ درصد نمونه‌ها دچار خون‌ریزی ریوی می‌باشند. مقایسه نتایج گروه Post<sub>2</sub> با N.S و HMT افزایش خون‌ریزی ریوی را در این گروه نشان می‌دهد. ولی مقایسه نتایج گروه Post<sub>2</sub> با گروه HD<sub>2</sub> نشانگر کاهش میزان خون‌ریزی ریوی می‌باشد (عکس ۱۶). و مقایسه بین گروه Pre<sub>2</sub> و Post<sub>2</sub> نشان دهنده کاهش میزان خون‌ریزی ریوی در گروه Post<sub>2</sub> نسبت به Pre<sub>2</sub> می‌باشد (جدول ۱).

#### جدول شماره (۱): مقایسه مشاهدات هیستوپاتولوژیک

تعدادی از عوارض ریوی بر حسب درصد در گروه‌های مختلف

عارضه	ادم ریوی	کلاپس ریوی	خون‌ریزی ریوی
گروه			
N.S	۰٪	۰٪	۵٪
HMT	۰٪	۶/۰۷٪	۱۰/۰۷٪
HD1	۷۵/۳۰٪	۴۶/۵٪	۵۱/۵٪
Pre1	۱۷٪	۴۶/۵٪	۳۵/۵٪
Post1	۱۳/۵٪	۱۳/۵٪	۰٪
HD2	۳۷/۵٪	۱۷٪	۲۷/۵٪
Pre2	۰٪	۷٪	۱۷٪
Post2	۰٪	۰٪	۱۲/۵٪

نسبت به HD<sub>1</sub> و Pre<sub>1</sub> می‌باشد (عکس ۴). در گروه HD<sub>2</sub> ۳۷/۵ درصد دچار ادم ریوی بودند که در مقایسه با گروه HD<sub>1</sub> ادم ریوی به شدت کاهش یافته است (عکس ۵). در گروه Pre<sub>2</sub> و Post<sub>2</sub> هیچ‌گونه ادم ریوی مشاهده نشد (جدول ۱).

بررسی نتایج کلاپس ریوی:

بررسی نتایج حاصل نشان داد که در گروه N.S که ۱۰۰ درصد نمونه‌ها طبیعی بوده و هیچ‌گونه کلاپس ریوی در نمونه‌ها مشاهده نشد (عکس ۶) ولی در گروه HMT فقط ۶/۷۰ درصد نمونه‌ها دچار کلاپس ریوی شدند. مقایسه بین این دو گروه نشانگر افزایش کلاپس ریوی در گروه HMT نسبت به گروه N.S می‌باشد.

در گروه HD<sub>1</sub> میزان کلاپس ریوی ۴۶/۵ درصد دیده شد (عکس ۷). که مقایسه نتایج HD<sub>1</sub> با گروه HMT و N.S نشان داد که میزان کلاپس ریوی در این گروه افزایش یافته است. در گروه Pre<sub>1</sub> نیز نتایج کلاپس ریوی همانند گروه HD<sub>1</sub> بود و هیچ‌گونه کاهشی مشاهده نشد (عکس ۸). ولی نتایج حاصل از بررسی کلاپس ریوی در گروه Post<sub>1</sub> نشان داد که ۱۳/۵ درصد نمونه‌ها دچار کلاپس ریوی بودند (عکس ۹).

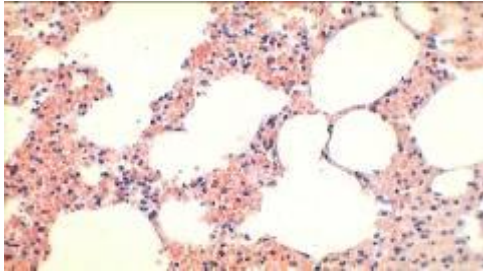
مقایسه نتایج گروه Post<sub>1</sub> با گروه‌های Pre<sub>1</sub> و HD<sub>1</sub> نشانگر بهتر شدن وضعیت ریه‌ها در گروه Post<sub>1</sub> در مقایسه با گروه Pre<sub>1</sub> و HD<sub>1</sub> می‌باشد. بررسی نتایج در گروه HD<sub>2</sub> نشان داد که ۱۷ درصد نمونه‌ها دچار کلاپس ریوی می‌باشند (عکس ۱۰) ولی در گروه Pre<sub>2</sub> ۷ درصد کلاپس ریوی دیده شد. ولی میزان کلاپس ریوی در گروه Post<sub>2</sub> نرمال می‌باشد و ۱۰۰ درصد نمونه‌ها نرمال می‌باشند. که مقایسه بین گروه HD<sub>1</sub> و HD<sub>2</sub> نشان داد که میزان کلاپس در گروه HD<sub>1</sub> بیشتر از گروه HD<sub>2</sub> می‌باشد (جدول ۱).

بررسی نتایج خون‌ریزی ریوی:

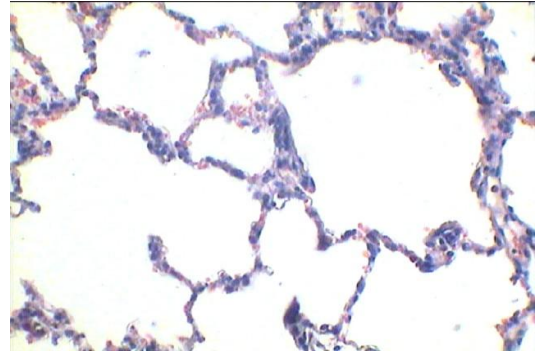
بررسی نتایج حاصل نشان داد که میزان خون‌ریزی ریوی در گروه N.S ۵ درصد می‌باشد. ولی میزان خون‌ریزی ریوی در گروه HMT ۱۰/۰۷ درصد می‌باشد که مقایسه بین این دو گروه نشان دهنده افزایش خون‌ریزی ریوی در گروه HMT نسبت به گروه N.S بوده است (عکس ۱۱).

بررسی نتایج خون‌ریزی ریوی در گروه HD<sub>1</sub> نشان داد که ۵۱/۵ درصد نمونه‌ها دچار خون‌ریزی ریوی شده‌اند که مقایسه نتایج این گروه با گروه‌های HMT و N.S نشان دهنده افزایش خون‌ریزی در گروه HD<sub>1</sub> می‌باشد (عکس ۱۲).

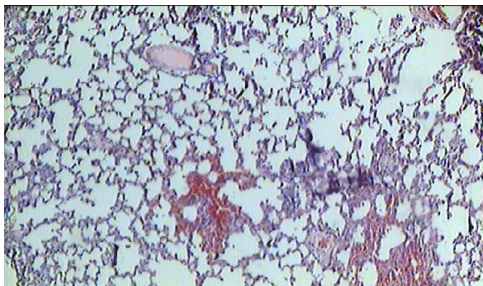
بررسی نتایج خون‌ریزی ریوی در گروه Pre<sub>1</sub> نشان داد که ۳۵/۵ درصد از نمونه‌ها دچار خون‌ریزی ریوی شده‌اند. مقایسه نتایج



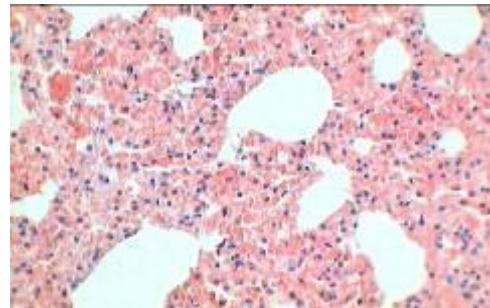
**عکس (۵):** تصاویر ادم ریوی. ×۴۰۰  
ادم ریوی در گروه HD2 نسبت به گروه HD1 کاهش یافته است.



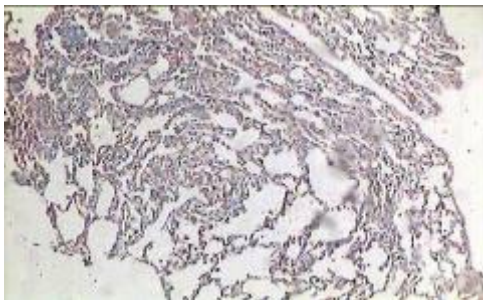
**عکس (۱):** تصاویر ادم ریوی. ×۴۰۰  
ادم ریوی در گروه NS دیده نمی‌شود.



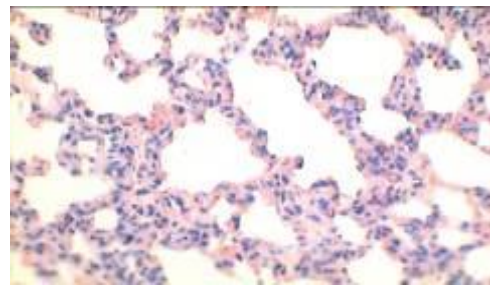
**عکس (۶):** تصاویر کلاپس ریوی. ×۴۰۰  
کلاپس ریوی در گروه NS دیده نمی‌شود.



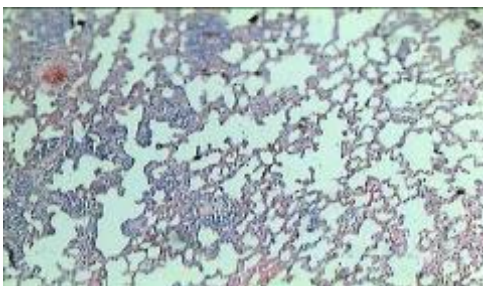
**عکس (۲):** تصاویر ادم ریوی. ×۴۰۰  
ادم ریوی در گروه HD1 نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر بود



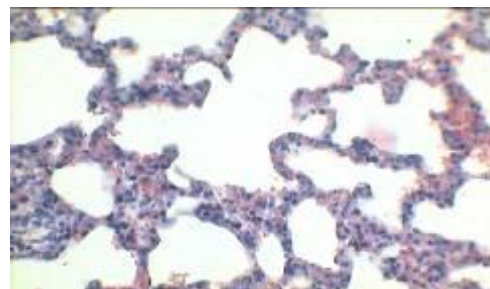
**عکس (۷):** تصاویر کلاپس ریوی. ×۴۰۰  
کلاپس ریوی در گروه HD1 نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر بود.



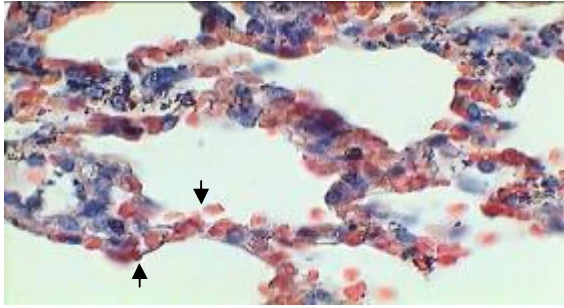
**عکس (۳):** تصاویر ادم ریوی. ×۴۰۰  
ادم ریوی در گروه Pre1 نسبت به گروه‌های HD کاهش یافته است.



**عکس (۸):** تصاویر کلاپس ریوی. ×۴۰۰  
کلاپس ریوی در گروه Pre1 نسبت به گروه‌های دیگر بیشتر بود.



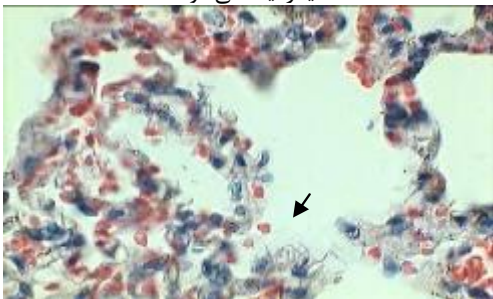
**عکس (۴):** تصاویر ادم ریوی. ×۴۰۰  
ادم ریوی در گروه Post1 نسبت به گروه‌های HD و Pre1 کاهش یافته است.



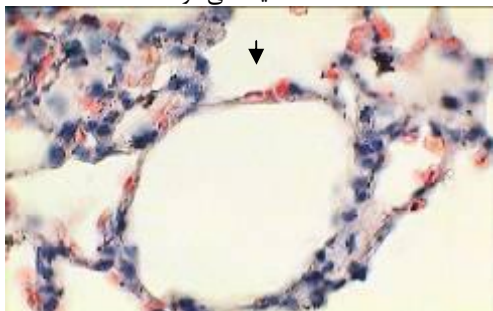
**عکس (۱۳):** تصاویر خونریزی ریوی.  $\times 1000$ .  
در گروه Pre1 کاهش خونریزی ریوی نسبت به گروه HD1 دیده می‌شود.



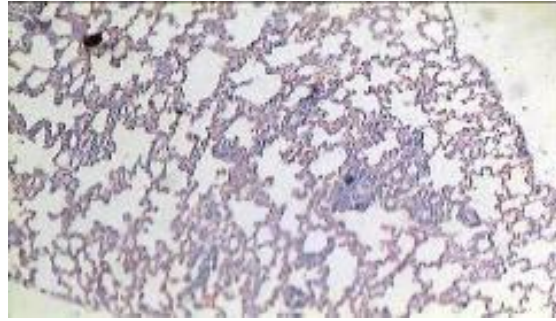
**عکس (۱۴):** تصاویر خونریزی ریوی.  $\times 1000$ .  
در گروه Post1 کاهش خونریزی ریوی نسبت به گروه‌های دیگر دیده می‌شود.



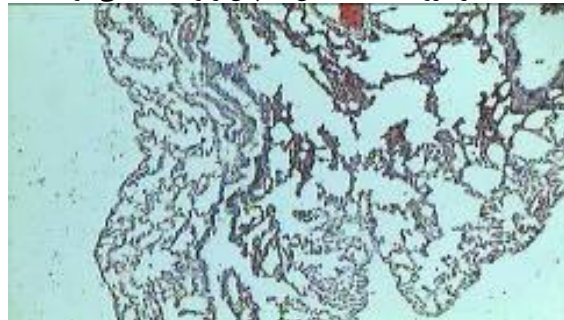
**عکس (۱۵):** تصاویر خونریزی ریوی.  $\times 1000$ .  
در گروه HD2 کاهش خونریزی ریوی نسبت به گروه Pre1 و HD1 دیده می‌شود.



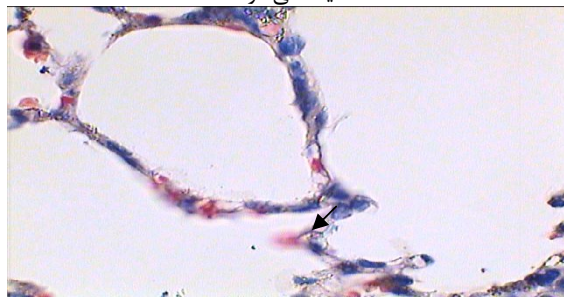
**عکس (۱۶):** تصاویر خونریزی ریوی.  $\times 1000$ .  
در گروه Post2 کاهش خونریزی ریوی نسبت به گروه‌های HD و Pre دیده می‌شود.



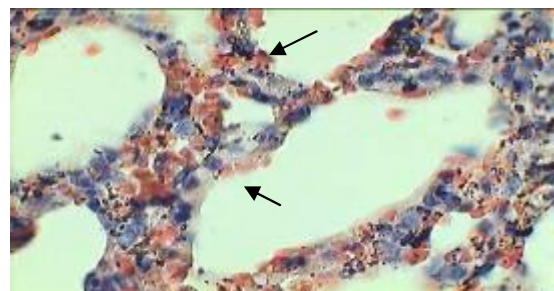
**عکس (۹):** تصاویر کلاپس ریوی.  $\times 400$ .  
در گروه Post1 کاهش کلاپس ریوی دیده می‌شود.



**عکس (۱۰):** تصاویر کلاپس ریوی.  $\times 400$ .  
در گروه HD2 کاهش کلاپس ریوی نسبت به گروه HD1 دیده می‌شود.



**عکس (۱۱):** تصاویر خونریزی ریوی.  $\times 1000$ .  
در گروه N.S | خونریزی ریوی نسبت به گروه‌های دیگر کمتر بود.



**عکس (۱۲):** تصاویر خونریزی ریوی.  $\times 1000$ .  
در گروه HD1 افزایش خونریزی ریوی نسبت به گروه‌های دیگر دیده می‌شود.

## بحث

بررسی اثر سولفورمستارد بر هستیوپاتولوژی ریه نشان داد که در موش‌های صحرایی دریافت کننده سولفورمستارد مواردی از ارتشاح سلول‌های التهابی، ادم ریوی، خون‌ریزی ریوی و کلاپس ریوی مشاهده می‌شود. تغییرات هستیوپاتولوژیکی عیدیه‌ای در قسمت‌های مختلف سیستم تنفسی توسط سولفورمستارد ایجاد می‌شود که می‌توان به ارتشاح سلول‌های لنفوبیدی ادم در برونشیول‌ها و بافت بینابینی، پرخونی عروق ریوی، خون‌ریزی در کیسه‌های هوایی در گروه‌های دریافت کننده سولفورمستارد اشاره نمود که این نتایج با مطالعات قبل که روی انسان و حیوانات انجام شده مطابقت دارد (۲۳-۱۹).

استنشاق سولفورمستارد باعث تخریب سلول‌های استوانه‌ای اپی‌تلیال دستگاه تنفس فوقانی همراه با ادم اطراف برونشیولی و ادم اطراف عروق خونی، ارتشاح سلولی در لایه ساب موکوسی و تخریب سیتوپلاسم و ساختار هسته می‌گردد و همچنین سبب خون‌ریزی ریوی همراه با ادم ریوی و نقص عملکرد سیستم تنفس می‌شود (۲۴، ۲۵).

مواجهه با مقادیر زیادی از سولفورمستارد باعث آسیب به راه‌های هوایی انتهایی می‌گردد که این عامل باعث انسداد راه‌های هوایی تحتانی می‌گردد و در چندین رزمندگی ایرانی تصاویر کلینیکی از سندرم دیسترسی تنفسی مشاهده شده است (۲۸، ۲۶، ۳). ادم در ناحیه راه‌های هوایی فوقانی و تحتانی همراه با زخم و نکروز دیده می‌شود و در این حالت عملکرد ممانعتی و پاکسازی از مسیر تراکتو برونشیاال خیلی کاهش می‌یابد (۲، ۲۷). در مطالعه‌های که بر روی افراد آلوده به سولفورمستارد انجام شد مواردی از برونشکتازی (۷۴ درصد) بی‌نظمی و گشاد شدن راه‌های هوایی بزرگ (۶۶ درصد) ضخیم شدن دیواره برونشی (۹۰ درصد) ضخیم شدن دیواره سپتال بین آلوئولی (۲۶ درصد) از بافت‌های غیرطبیعی مشترک در این افراد بوده است (۱۲، ۲۹، ۳۰).

نتایج تحقیق حاضر نیز افزایش ادم ریوی و خون‌ریزی داخل آلوئولی در گروه‌های HD را نشان داده است و نتایج نشانگر ادم ریوی شدید در گروه HD<sub>۱</sub> نسبت به گروه HD<sub>۲</sub> می‌باشد که این امر وابستگی بین عوارض ریوی ایجاد شده و دوز از سولفورمستارد را نشان می‌دهد. در مطالعه اثرات سولفورمستارد بر روی بافت ریه در محیط کشت مشاهده شد سولفورمستارد باعث دژنراسیونی از سلول‌های آندوتلیال عروق بزرگ در ریه می‌شود و با گذر زمان تخریب دیواره‌های آلوئولی، هیپر پلازی سلول‌های پنوموسیت نوع II دیده می‌شود و با افزایش دوز سولفورمستارد دژنراسیونی از اپی‌تلیوم برونشیول‌ها و آندوتلیال عروق ریوی و پیکنوزی از سلول‌های اپی‌تلیال آلوئول‌ها و تخریب مویرگ‌های آلوئولی که

منجر به خون‌ریزی ریوی در لامینای آلوئولی و بافت بینابینی ریوی مشاهده می‌شود (۳۱).

در تحقیق دیگر گزارش شده است که ۶ تا ۷ ساعت بعد از استنشاق بخار سولفورمستارد موش‌ها دچار خون‌ریزی، پرخونی پلوری ریوی، تخریبی از سلول‌های ریوی، آتلکتازی و انباشته شدن ماده فیبرین در پارانشیم ریه شده و آسیب بیشتر به نای و راه‌های هوایی با افزایش میزان دوز سولفورمستارد مشاهده شده است و زخم‌های پارانشیمی ایجاد شده بیشتر در برونشهای لوبی بوده و کم‌تر در برونشیول‌های تنفسی مشاهده شده است و همچنین انسداد برونشیول‌ها و تشکیل غشای کاذب نیز دیده شده است. ۲۴ ساعت بعد از مواجهه با سولفورمستارد انفصال در سلول‌های اپی‌تلیال نیز دیده می‌شود. ۴۸ ساعت بعد نکروز سلول‌های اپی‌تلیال و جدا شدن سلول‌ها دیده می‌شود و سلول‌های تخریب شده و ذرات سلولی همراه با مواد فیبرینی و سلول‌های پلی مورفونوکلنار باعث تشکیل غشای کاذب در سطح راه‌های هوایی شده و به طور عمده باعث گشاد شدن عروق خونی در دیواره‌های آلوئولی می‌گردد. مهاجرت لکوسیت‌های پلی مورفونو کلنار به سطح آندوتلیال و دیواره‌ها باعث ادم اطراف عروق خونی می‌شود و همچنین نکروزیس و جدا شدن پارانشیم آلوئولی و خون‌ریزی نیز مشاهده شده است (۴).

استنشاق سولفورمستارد در موش‌ها نشان داد که سولفورمستارد باعث انسداد راه‌های هوایی با گذر زمان می‌شود و انتشار داخل تراشه‌ای از سولفورمستارد در خوکچه هندی باعث افزایش نفوذ پذیری مویرگ‌های ریوی می‌گردد که باعث انسداد راه‌های هوایی می‌شود (۶). نتایج مطالعات احمدی و شهرپاری (۳۲) بر روی ریه موش‌های صحرایی نیز التهاب، ضخیم شدن دیواره‌های آلوئولی و لوکال فیبروز را نشان داد. گزارشات اولیه در مورد عوارض ریوی در انسان نشان داد که مواجهه با مقادیر زیاد سولفورمستارد باعث تنگی برونشیاال شدید و از بین رفتن حرکت مژک‌ها شده که باعث عفونت‌های مزمن و برونشکتازی می‌گردد (۳۳).

حسینی و همکاران نیز در بخشی از قربانیان گاز سولفورمستارد برونشیت مزمن با انسداد مجاری هوایی COPD را گزارش نمودند (۳۴، ۱). که این مطالعات با نتایج تحقیق حاضر همسویی داشته است.

بررسی نتایج تحقیق حاضر در مورد کلاپس ریوی نشان داد که میزان کلاپس ریوی در گروه‌های دریافت کننده سولفورمستارد پایین می‌باشد و فقط در گروه HD کلاپس ریوی مشاهده می‌شود و در بقیه گروه‌ها میزان کلاپس ریوی اندک می‌باشد.

هیچ‌گونه ادم ریوی نشان ندادند و فقط تغییر اندکی در عروق اپی‌تلیوم مشاهده شد و هیچ‌گونه انفصال سلول‌های اپی‌تلیال و ادم لایه ساب اپی‌تلیال مشاهده نشد؛ درمان کوچک‌های هندی با داکسی‌سیلین قبل از مواجهه به سولفورموستارد نشان داد که به طور معنی‌دار داکسی‌سیلین باعث حفاظت بافت ریه در برابر سولفورموستارد می‌شود. مطالعات دیگر نشان دهنده نقش حفاظتی از dimethylthioureaq , NAC , داکسی‌سیلین و داروهای دیگر بوده است (۳۹،۳۸،۸).

که این نتایج با نتایج تحقیق حاضر در مورد نقش محافظتی HMT در گروه‌های Pre همسویی داشته؛ به‌طوری که مشاهده می‌شود میزان عوارض ریوی بررسی شده در گروه‌های Pre کاهش قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با گروه‌های HD داشته است.

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد اثرات درمانی HMT نسبت به اثرات محافظتی آن بیشتر بوده است. به‌طوری که مقایسه بین گروه‌های Pre و Post نشان دهنده کاهش عوارض ریوی در گروه Post به نسبت گروه‌های Pre بوده است و در گروه‌های Post بهبود ادم ریوی، کلاپس و خون‌ریزی ریوی به مراتب بالاتر از گروه‌های Pre می‌باشد که این امر نشانگر اثرات درمانی بالای HMT نسبت به اثرات محافظتی آن می‌باشد.

داروهای درمانی که در مورد درمان عوارض ریوی به کار گرفته است و بیشتر در مورد درمان عوارض ریوی دیررس ایجاد شده بوده است و در مورد داروهای درمانی که بلافاصله بعد از مواجهه با سولفورموستارد مورد استفاده قرار گیرد تحقیقات چندانی انجام نشده است.

تحقیقاتی که در محیط کشت بر روی سلول‌های اپی‌تلیال ریه انجام شد نشان داده که افزودن HMT بعد از سولفورموستارد هیچ‌گونه نقش درمانی را بر روی این سلول‌ها نداشته است (۸). که این یافته‌ها با نتایج این تحقیق مغایرت داشته است. زیرا نتایج حاصل نشانگر عوارض ریوی کم‌تری در گروه‌های Post نسبت به گروه‌های Pre می‌باشد که نشان دهنده نقش درمانی بهتر HMT می‌باشد.

### نتیجه گیری

هگزامتیلن تترآمین دارای اثرات محافظتی و درمانی بر بافت ریه می‌باشد.

مطالعه‌ای (۳۵) که بر روی مصدومین شیمیایی انجام شده بود نشان دهنده درصد خیلی پایینی از کلاپس تراشه‌ای و برونشئولوی در بیماران مواجهه شده با سولفورموستارد بود که تایید کننده نتایج حاصل بوده است و عوارض ریوی گزارش شده بیشتر شامل آسم، برونشیت و برونشکتازی بودند که البته از عوارض دیررس ریوی به‌شمار می‌رفتند.

بررسی نتایج تحقیق حاضر در گروه‌های Pre و Post نسبت به گروه‌های HD نشانگر کم‌تر شدن عوارض ریوی در گروه‌های Pre و Post نسبت به HD بوده است که این امر نشانگر اثرات مثبت HMT بر روی بافت ریه می‌باشد. مولکول HMT چهار اتم نیتروژن نوکلئوفیلیک در ساختار خود دارد که توانایی ترکیب با یون اپی‌سولفونیوم ایجاد شده توسط سولفورموستارد در سلول را دارا بوده و مانع از ورود یون اپی‌سولفونیوم به داخل سلول می‌شود و در نتیجه مانع از اکیله شدن مولکول‌های درون سلول می‌گردد (۱۶).

پس می‌توان چنین توجیه کرد که نقش مثبتی که HMT در گروه‌های Pre و Post ایفا می‌کند ناشی از این خاصیت HMT باشد. از سویی دیگر تحقیقات نشان داده که HMT به‌عنوان یک عامل محافظتی در برابر عامل شیمیایی فسژن به‌شمار می‌رود و مانع از واکنش فسژن با ماکرومولکول‌های سلولی می‌گردد (۱۷).

در مطالعه‌ای دیگر که بر روی سلول‌های نوموسیت انسانی A549 انجام شد، مشاهده شد وقتی که HMT به‌طور هم‌زمان با زودتر از سولفورموستارد به محیط کشت اضافه می‌شود باعث ایفای نقش محافظتی در برابر سولفورموستارد می‌گردد (۸). که این امر نشانگر نقش حفاظتی HMT در شرایط *in vitro* می‌باشد که تأیید کننده نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌باشد.

بررسی‌هایی که در مطالعات قبلی بر روی داروهای مختلف در مورد درمان عوارض ریوی در برابر سولفورموستارد انجام شده است نشان داد درمان کورتیکو استروئیدی به‌عنوان یک عامل محافظتی در برابر عوارض ریوی حاد و مزمن می‌باشد کورتیکو استروئیدها باعث کاهش عوارض ریوی شده‌اند ولی خود اثرات سوء دیگر بر سیستم بدن داشته‌اند (۲۴). ترکیب تیو سولفات سدیم با داروهای همانند سیتین، سدیم نیترات، دگزامتا زون، پرومتازون، هپارین و ویتامین E نیز بیشتر دارای نقش حفاظتی بر ضد سولفورموستارد می‌باشد (۳۷،۳۶).

مطالعه‌ای (۳۸) نشان داد که زمانی که کوچک‌های هندی بیش از مواجهه با سولفورموستارد داکسی‌سیلین را دریافت کردند

### References:

1. Emad A, Rezaian Gh. The diversity of the effects of sulfur mustard gas inhalation on respiratory

system 10 years after a single, heavy exposure: analysis of 197 cases. Chest 1997;112:734-8.



2. Kia K, Ladislaus S. Medical aspects of sulfur mustard poisoning. *Toxicology* 2005; 214:198-209.
3. Balalimood M, Hefazi M. Comparison of early and late toxic effects of sulfur mustard in Iranian veterans. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2006; 99:273-82.
4. Pants C, Vijavaraghavan R. Histomorphological and histochemical alterations following short-term inhalation exposure to sulfur-mustard on visceral organs of mice. *Biomed Environ Sci* 1999; 12(3):201-13.
5. Anderson DR, Yourick JJ, Moeller RB, Petrali P, Young GD, Byers SL. Pathologic changes in rat lungs following acute sulfur mustard inhalation. *Inhal Toxicol* 1996; 8:285-97.
6. Calvet JH, Jerreau PH, Levame M, d'Orto MP, Lorino H, Harf A, et al. Acute and chronic respiratory effects of sulfur mustard intoxication in guinea pig. *Appl Physiology* 1994; 76:681-8.
7. Chevillar M, Laine P, Robineau P, Puchelle E. Toxic effects of sulfur mustard on respiratory epithelial cells in culture. *Cell Biol Toxicol* 1992; 8:171-81.
8. Lindsay CD, Hambrook JL. Protection of A549 cells against the toxic effects of sulfur by hexamethylentetramine (HMT). *Hum Exp Toxicol* 1997; 16(2):106-14.
9. Sasser LB, Cushing JA, Dacre JC. Two generation reproductive study of sulfur mustard in rats. *Reprod Toxicol* 1996; 10(4):311-19.
10. Manning KP, Skegg DCG, Stelland PM, Doll R. Cancer of the larynx and other occupation hazards of mustard gas workers. *Clin Otolaryngol* 1981; 6:165-70.
11. Ghanei M, Akhlaghpour S, Mohammad MM, Aslani J. Tracheobronchial stenosis following sulphur mustard inhalation. *Inhal Toxicol* 2004; 16(13):845-9.
12. Ghanei M, Mokhtari M, Mohammad MM, Aslani J. Bronchiolitis obliterans following exposure to sulfur mustard: chest high resolution computed tomography. *Eur J Radiol* 2004; 52:164-9.
13. Ostad SN, Kebriaeezadeh A, Zare Kamali R, Abdollahi M, Marzban H, Akhgori M. The protective effect of indomethacin on ocular damages of sulfur mustard in the rabbit eye. *J Med Is Rep Ir* 2001; 14(4):385-93.
14. Balali-Mood M, Hefazi M, Mohmodi M, Jalali I, Aharan D, Maleki M. Evaluation of delayed toxic effect of sulfur mustard poisoning in severely intoxicated Iranian veterans: a cross sectional study. *Int J Med CBR Def* 2005; 3:1-32.
15. Rappeneau S, Baeza-squiban A, Marano F, Calvet J. Efficient protection of human bronchial epithelial cells against sulfur and nitrogen mustard cytotoxicity using drug combinations. *Toxicol Sci* 2000; 58(1):153-66.
16. Andrew DJ, Lindsay CD. Protection of human upper respiratory tract cell lines against sulphur-mustard toxicity by hexamethylentetramine (HMT). *Hum Exp Toxicol* 1998; 17(7):373-9.
17. Diller WF. Medical phosgene problems and their possible solution. *Occup Med* 1978; 20:189-93.
18. Ucar M, Korkmaz A, Reiter RJ, Yaren H, Öter S, Kurt B et al. Melatonin alleviates lung damage induced by the chemical warfare agent nitrogen mustard. *Toxicol Lett* 2007; 173: 124-31
19. Mahdavinab H, Mahdavinab H. Histopathological changes in lung rat of the acute and chronic sulfur mustard. *J Iran Anat* 2003; 5(3): 211-17. (Persian)
20. Eimani H, Mahdavinab H, Mofid M, Kaka GH, Sadraie H, Asadi MH. Effects of acute intraperitoneal injection on plural rat lungs. *J Iran Anatomical Sci* 2004; 3: 49-56. (Persian)
21. Placke ME, Fisher GL. Adult peripheral lung culture, a model for respiratory tract toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol* 1987; 90:284-98.

22. Plack ME, Fisher GL. Asbestos in peripheral lung culture: a species comparison of pulmonary tissue response. *Drug Chem Toxicol* 1987;10:133-56.
23. Papirmeister B, Feister AJ, Robinsan ST, Ford RD. Molecular basis for mustard induced vesication. *Fundam Appl Toxicol* 1991; 5:134-49.
24. Prakash UB. Chemical warfare and bronchoscope. *Chest* 1991; 100(1): 1486-88.
25. Alberts WM, Guillermo A. Reactive airway dysfunction syndrome. *Chest* 1996;109:1618-26.
26. Karimi Zarchi A, Holakouie Naieni K. Long-term pulmonary complication in combatants exposed to mustard gas: a historical cohort study. *Int J Epidemiol* 2004; 33:579-81.
27. Willems JL. Clinical management of mustard gas casualties. *Ann Med Mil Belg* 1989; 3:s1-s61.
28. Balalimood M, Navaeian A. Clinical and paraclinical findings in 233 patients with sulfur mustard poisoning. In: Heyndrickx E, Editor. *Proceedings of the First World Congress on New Compounds in Biological and Chemical Warfare*. Ghent: Rijksuniversiteit; 1984. P. 464-73.
29. Ghanei M, Harandi AA. Long term consequences from exposure to sulfur mustard: a review. *Inhal toxicol* 2007;19(5):451-6.
30. Bagheri MH, Hosseini SK, Mostafavi SH, Alavi SA. High-resolution CT in chronic pulmonary changes after mustard gas exposure. *Acta Radiol* 2003; 44:241-5.
31. Sawyer TW, Wilde PE, Rice P, Weiss MT. Toxicity of sulphur mustard in adult rat lung organ culture. *Toxicology* 1995; 100: 39-49.
32. Ahmadi K, Shahryar A. Effect of sulfur-mustard on lung tissue in rat. *J Mil Med* 2004;7(3):219-23. (Persian)
33. Freitage L, Firusian N, Stamatis G, Greschuchna D. The role of bronchoscopy in pulmonary complications due to mustard gas inhalation. *Chest* 1991; 100: 1436-41.
34. Hosseini K, Alavi S, Adedi AI. Reversibility of airflow obstruction in chronic obstructive pulmonary disease, secondary to sulfur mustard gas injury. *Arch Iran Med* 1999; 2:178-80.
35. Ghanei M, Akbari Moqadam F, Mir mohammad M, Aslani J. Tracheobronchomalacia and air trapping after mustard gas exposure. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173:304-9.
36. Callaway S, Pearce KA. Protection against poisoning by mustard gas, di (2-chloroethyl) sulphide, by sodium thiosulphate and thiocit in the albino rat. *Brit J Pharmacol* 1958; 13:395-8.
37. Foster JH, Lewis MR, Jacobs JK. Thiosulfate protection against the toxic effects of nitrogen mustard in perfusion of the liver. *Am J Surg* 1962; 28:461-4.
38. Guignabert C, Taysse L, Calvet JH, Planus E. Effect of doxycycline on sulfur mustard induced respiratory lesions in guinea pigs. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 289:l67-74.
39. Sabri M, Beman zareie A, Pirzad ZH. Study of effect HMT on HF2FF cell on effect of sulfur mustard. *J Mil Med* 2004; 7(4): 271-7. (Persian)