مجله طب نظامی
دوره ۱۲، شماره ۱، بهار ۱۳۸۹
صفحات: ۳۱-۲۷

Iranian Journal of Military Medicine
Vol. 12, No. 1, Spring 2010
Pages: 27-31

# اثرات هگزامتیلن‌تترآمین بر ماکروفاژهای بافت ریه موش‌های صحرایی آلوده به دو دوز متفاوت از سولفورموستارد

سید همایون صدرایی[۱] *PhD*، زهرا عبدی[*] *MSc*، فریده ابوعلی[۱] *PhD*

[*]بیمارستان امام حسین(ع)، زنجان، ایران

[۱]گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا... (عج)، تهران، ایران

## چکیده

**اهداف:** استنشاق سولفورموستارد باعث التهاب راه‌های هوایی و برونشیول‌ها می‌شود. ماکروفاژها سلول‌های فاگوسیتوزی هستند که در همه بافت‌های بدن پراکنده‌اند. اثر حفاظتی هگزامتیلن‌تترآمین بر سلول‌های ریه انسان در برابر سولفورموستارد و فسژن گزارش شده است. هدف این پژوهش، بررسی اثر هگزامتیلن‌تترآمین بر ماکروفاژهای ریه موش‌های آلوده به دو دوز متفاوت سولفورموستارد بود.

**روش‌ها:** ۴۲ سر موش صحرایی نر به وزن ۲۰±۲۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. موش‌ها به ۸ گروه NS، HMT، HD1، HD2، Pre1، Pre2، Post1 و Post2 تقسیم شدند. گروه‌های HD1، Pre1 و Post1 محلول سولفورموستارد ۰/۵٪، HD2، Pre2 و Post2 محلول سولفورموستارد ۰/۲۵٪، گروه NS نرمال سالین (به‌صورت داخل تراشه‌ای) و گروه HMT این دارو را به میزان ۷/۵ mg/kg (به‌صورت داخل صفاقی) دریافت نمودند. ۵ گروه HMT، Pre1، Pre2، Post1 و Post2 به مدت ۱۴ روز دارو دریافت کردند.

**یافته‌ها:** نتایج شمارش ماکروفاژها، افزایش معنی‌دار ماکروفاژهای گروه‌های HD در مقایسه با NS را نشان داد. به‌علاوه، ماکروفاژها در HD1 در مقایسه با HD2 افزایش معنی‌داری داشتند. ماکروفاژها در HD1 و Pre1 نسبت به گروه HMT افزایش معنی‌داری داشتند. ماکروفاژها در گروه‌های Pre و Post نسبت به گروه‌های HD کاهش معنی‌داری داشتند.

**نتیجه‌گیری:** هگزامتیلن‌تترآمین دارای اثرات محافظتی و درمانی بر بافت ریه در برابر سولفورموستارد است.

**کلیدواژه‌ها:** سولفورموستارد، ریه، ماکروفاژ، هگزامتیلن‌تترآمین، موش صحرایی نر

# Effects of hexamethylene tetramine on lung tissue macrophages in rats exposed by two different doses of sulfur mustard

**Sadraie S. H.[1] *PhD*, Abdi Z.[*] *MSc*, Abuali F.[1] *PhD***

[*]Imam Hossein Hospital, Zanjan, Iran
[1]Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

## Abstract

**Aims:** Inhalation of sulfur mustard (HD) gas causes inflammation of airways and bronchioles. Macrophages are phagocytic cells which spread out all over the body tissues. Hexamethylenetetramine [HMT] has been shown to protect human lung cells against HD and phosgene. This study was conducted to investigate the effects of HMT on macrophages of the lung tissue in the rats infected by two different doses of HD.

**Methods:** 42 male rats with weighs of 200±20g were randomly divided into 8 groups of NS, HMT, HD1, HD2, Pre1, Pre2, Post1 and post 2. HD1, Pre1 and Post1 groups received 0.5 %; HD, HD2, Pre2 and Post2 groups received 0.25%; HD and NS groups received Normal Saline (as endotracheal) and HMT group received 7.5mg/kg of this medicine (as intra-peritoneal). 5 groups of HMT, Pre1, Pre2, Post1 and post 2 received the medicine for 14 days.

**Results:** Results of the counting of macrophages revealed significant increase in the number of macrophages in HD groups comparing with NS group. In addition, macrophages significantly increased in the HD1 comparing with HD2. Macrophages significantly increased in HD1&Pre1 comparing with HMT group. Macrophages significantly decreased in Pre and Post groups comparing with HD groups.

**Conclusion:** HMT have therapeutic and protective effects on the lung tissue against HD.

**Keywords:** Sulfur Mustard, Lung, Macrophage, Hexamethylene Tetramine, Male Rat

---

نویسنده مسئول: زهرا عبدی. تمام درخواست‌ها باید به نشانی anatomy.master@yahoo.com فرستاده شوند.

دریافت مقاله: ۸۸/۳/۴ پذیرش مقاله: ۸۸/۱۱/۲۸

## مقدمه

گاز خردل یا سولفورموستارد، عامل الکیله‌کننده الکتروفیلیک با خواص موتاژنیک،کارسینوژنیک، سایتوتوکسیک و تاول‌زا است. اثرات سایتوتوکسیک عوامل الکیله‌کننده بر DNA، RNA و پروتئین، می‌تواند منجر به آسیب‌های موتاژنیک و در نهایت مرگ سلولی شود [۱، ۲، ۳].

*پاپی‌میتر* و همکاران نشان دادند که اثرات سایتوتوکسکی سولفورموستارد وابسته به الکیلاسیون، در سلول هدف است؛ بنابراین در کنترل فرآیند سلول‌های عادی اختلال ایجاد می‌کند [۴]. در این فرآیند، مجاری تنفسی بیشتر از سایر قسمت‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرند [۵، ۶، ۷]. استنشاق سولفورموستارد، باعث التهاب راه‌های تنفسی، آسیب به بافت اپی‌تلیال آن و آزادشدن واسطه‌های التهابی در ریه می‌شود [۸].

ارتشاح سلول‌های التهابی و افزایش پلی‌مورفونوکلئازها (گلبول‌های سفید چندهسته‌ای) که واسطه‌های مهمی در التهاب به‌شمار می‌روند، از جمله عوارض ریوی ناشی از آلودگی به این عامل است [۹]. ماکروفاژها، سلول‌های فاگوسیتوزی هستند که در سراسر بدن پراکنده‌اند و دستگاه فاگوسیت تک‌هسته‌ای را تشکیل می‌دهند. منشا ماکروفاژها عمدتاً مونوسیت‌ها هستند که در خون گردش می‌کنند [۱۰].

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، واکوئله‌شدن و تورم سلول‌های پارانشیم بافت ریه مشاهده شده است [۱۱].

مطالعات کمی در مدل‌های حیوانی [۱۲، ۱۳] و آزمایشگاهی [۱۴، ۱۵] بر سلول‌های اپی‌تلیال تنفسی به‌عنوان هدف اصلی سولفورموستارد انجام گرفته است. در کارگران ژاپنی کارخانجات تولیدکننده گازهای شیمیایی، افزایش مرگ در اثر بیماری‌های ریوی و همچنین افزایش برونشیت مزمن گزارش شده است [۱۶]. *مانینگ* و همکاران نشان داده‌اند که پنومونی تنها علت مرگ کارگران کارخانجات تولید سولفورموستارد در انگلیس بوده است [۱۷]. عده‌ای از محققان نیز نتایج مشابهی در مورد اثرات گاز موستارد در ریه به‌دست آورده‌اند [۱۸، ۱۹].

هگزامتیلن تترآمین (HMT)، دارویی با خاصیت ضدالتهابی و ضدباکتریایی است. HMT در ساختار خود دارای ۴ اتم نیتروژن نوکلئوفیل است که به‌نظر می‌رسد توانایی واکنش با سولفورموستارد را داشته و اثرات سوء آن را بر سلول‌های بدن کاهش می‌دهد [۱۵، ۲۰، ۲۱]. اثرات محافظتی HMT در محیط کشت بر سلول‌های نوموسیت II آلوده به سولفورموستارد گزارش شده است [۲۱]. همچنین HMT دارای اثرات محافظتی بر سلول‌های بدن در برابر عامل شیمیایی فسژن است [۲۲].

مطالعات انسانی نشان می‌دهد که سولفورموستارد باعث تنگی نفس، خس‌خس سینه، آزردگی حنجره، تخریب مخاط بینی و تنفسی و برونشیت همراه با نکروز مخاط می‌شود [۲۳]. استنشاق مقادیر زیاد سولفورموستارد باعث تخریب اپی‌تلیوم تنفسی می‌شود [۷، ۲۴]. در این تحقیق برای اولین بار از HMT به‌منظور حفاظت و درمان بافت ریه در موش صحرایی آلوده به سولفورموستارد استفاده شد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی تعداد ماکروفاژها در بافت ریه موش صحرایی نر در گروه‌های مختلف به‌عنوان یک شاخص التهاب بود.

## روش‌ها

در این مطالعه، ۴۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سه‌ماهه (موسسه تحقیقاتی پاستور؛ ایران) به وزن ۲۰±۲۰۰ گرم تهیه شد. حیوانات در شرایط یکسان از نظر غذا، نور، آب و حرارت نگهداری شدند و به‌صورت تصادفی در ۸ گروه قرار گرفتند. سولفورموستارد به‌صورت محلول ۰/۵٪ (سولفورموستارد به میزان ۰/۵ میکرولیتر در ۱۰۰ میکرولیتر نرمال سالین) و ۰/۲۵٪ (سولفورموستارد به میزان ۰/۲۵ میکرولیتر در ۱۰۰ میکرولیتر نرمال سالین) آماده شد [۲۵]. گروه اول (NS) میزان ۱۰۰ µl/kg نرمال سالین به‌صورت داخل تراشه‌ای تحت بیهوشی با استفاده از سوندی به ضخامت ۱/۵ میلی‌لیتر و طول ۵ سانتیمتر یکبار تزریق شد. گروه دوم (HMT) میزان ۷/۵ mg/kg داروی HMT به‌صورت داخل صفاقی دریافت کردند (این گروه شامل ۷ سر موش بود). به گروه سوم (HD1)، محلول سولفورموستارد ۰/۵٪ به میزان ۱۰۰ µl/kg به صورت داخل تراشه‌ای تنها یکبار تزریق شد. به گروه چهارم (Pre1) به‌منظور حفاظت از بافت ریه در برابر سولفورموستارد، یک ساعت قبل از دریافت محلول سولفورموستارد ۰/۵٪، داروی HMT به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. به گروه پنجم (Post1) به‌منظور درمان سریع با HMT پس از مواجهه حیوانات با سولفورموستارد، ۱۰ دقیقه بعد از دریافت محلول سولفورموستارد ۰/۵٪، داروی HMT به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. گروه‌های ۶ (HD2)، ۷ (Pre2) و ۸ (Post2) همانند گروه‌های HD1، Pre1 و Post1 محلول سولفورموستارد و دارو دریافت کردند، با این تفاوت که محلول سولفورموستارد ۰/۲۵٪ بود (محلول سولفورموستارد ۱۰۰ µl/kg و دارو ۷/۵ mg/kg).

گروه‌های ۲، ۴، ۵، ۷ و ۸ به مدت ۱۴ روز، روزانه یکبار HMT (سینا دارو؛ ایران) را به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. بعد از گذشت ۱۴ روز حیوانات کشته شده و از ناحیه قاعده لوب خلفی ریه راست به اندازه ۵ میلی‌مترمکعب نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰٪ تثبیت شدند و پس از انجام پردازش بافتی، مقاطع ۵ میکرونی از نمونه‌ها تهیه شد. برای بررسی بافت ریه از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین استفاده شد. شمارش ماکروفاژهای موجود در بافت ریه با استفاده از میکروسکوپ نوری (Zenit؛ اسپانیا) با بزرگنمایی ۱۰۰۰ انجام شد.

شمارش برای ۲۰ ناحیه (سطح هر ناحیه برابر ۱۴۱۰۰ میکرومترمربع) درهر نمونه به‌طور تصادفی انجام شد.
برای مقایسه گروه‌ها با هم از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

## نتایج

میانگین تعداد ماکروفاژها در گروه HMT (۵/۴۷±۷۶/۰۰) نسبت به گروه NS (۴/۷۷±۵۰/۰۰) افزایش معنی‌داری داشت (جدول ۱).
میانگین تعداد ماکروفاژها در گروه HD1 نسبت به گروه HD2 به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. بین میانگین تعداد ماکروفاژها در گروه‌های HD1، Pre1 و Post1 اختلاف معنی‌داری وجود داشت. همچنین اختلاف میانگین تعداد ماکروفاژها از نظر آماری بین گروه‌های HD2، Pre2 و Post2 معنی‌دار بود. کاهش میانگین تعداد ماکروفاژها در گروه Post1 نسبت به گروه Pre1 از نظر آماری نیز معنی‌دار بود، ولی در گروه Pre2 نسبت به Post2 این کاهش معنی‌دار نبود.

**جدول ۱)** میانگین تعداد ماکروفاژهای شمارش‌شده در هر گروه

| آماره← / گروه↓ | میانگین تعداد ماکروفاژها | سطح معنی‌داری نسبت به NS | سطح معنی‌داری نسبت به HMT |
|---|---|---|---|
| **NS ۱** | ۵۰/۰۰±۴/۷۷ | – | <۰/۰۵ |
| **HMT ۲** | ۷۶/۰۰±۵/۴۷ | <۰/۰۵ | – |
| **HD1 ۳** | ۱۳۵/۳۳±۶/۹۸ | <۰/۰۰۱ | <۰/۰۰۱ |
| **Pre1 ۴** | ۱۰۳/۳۳±۲/۷۲ | <۰/۰۰۱ | <۰/۰۰۱ |
| **Post1 ۵** | ۷۰/۹۳±۳/۷۳ | <۰/۰۵ | >۰/۰۵ |
| **HD2 ۶** | ۵۴/۵۳±۱/۳۲ | >۰/۰۵ | <۰/۰۵ |
| **Pre2 ۷** | ۲۶/۴۰±۳/۴۹ | <۰/۰۵ | <۰/۰۵ |
| **Post2 ۸** | ۲۸/۷۸±۲/۳۶ | <۰/۰۵ | <۰/۰۵ |

## بحث

سولفورموستارد باعث الکیله‌شدن ترکیبات سلول شده و منجر به ساخته و رهاشدن واسطه‌های التهابی وسیعی می‌شود. به‌دنبال این صدمات، پاسخ سلول به‌صورت التهاب و آسیب بافتی بروز می‌کند [۲۶]. سلول‌های فعال‌شده در نقاط التهاب باعث رهاشدن عوامل سمی مختلفی مانند پروتئازها و رادیکال‌های آزاد شده که منجر به تخریب سلول‌های پارانشیم می‌شود. این امر باعث مرگ سلولی (آپوپتوزیس و نکروزیس)، در سلول‌های پارانشیم ریوی می‌شود و این زخم‌ها باعث ایجاد محیط ایده‌آل برای عفونت‌های ثانویه در افراد آلوده به سولفورموستارد است [۱۱]. در تحقیق حاضر، نتایج نشان دهنده افزایش تعداد ماکروفاژها در گروه‌های آلوده به سولفورموستارد در مقایسه با گروه سالین بود. این امر نشانگر اثر سولفورموستارد بر افزایش تعداد ماکروفاژها در بافت اپی‌تلیوم ریه است.

مطالعات نشان داده است که در پاسخ به آسیب ریوی ایجاد شده توسط سولفورموستارد، سلول‌های التهابی وارد محل آسیب‌دیده شده و مدیاتورهای التهابی را آزاد می‌کند و در نهایت باعث برگشت ماتریکس خارج سلولی می‌شود. فاز التهابی، به‌واسطه آسیب به آندوتلیال یا اپی‌تلیال شروع می‌شود که به‌دنبال آن تهاجم سلول‌های التهابی به فضای بینابینی آلوئولی رخ می‌دهد. آزادشدن مدیاتورها، فراخوانی پلی‌مورفونوکلئازها و مونوسیت‌های خونی را به محل آسیب تسهیل می‌کند و در نهایت ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها در محل حاضر شده و واسطه‌های التهابی آزاد می‌شوند [۲۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹].
*لیویت* مشاهده کرد که سولفورموستارد در دوزهای ۲۵ و ۵۰ میکرومولار باعث تحریک اولیه سلول‌های بیگانه‌خوار در تولید و ترشح واسطه‌های شیمیایی وابسته به اکسیژن می‌شود ولی در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار باعث آپوپتوزیس در همین سلول‌ها می‌شود [۳۰]. در مطالعات دیگر نیز ثابت شده است که آسیب‌های ناشی از تزریق داخل تراشه‌ای CEE ۰/۵ mg/kg (آنالوگ سولفورموستارد) به دوز و مدت زمان آلودگی بستگی دارد [۳۱، ۳۲].
*لاردوت* نشان داد که مقدار یک مولار سولفورموستارد باعث افزایش ترشح اینترلوکین-۸ توسط کراتینوسیت‌های انسانی شده درحالی‌که غلظت‌های ۱ و ۱۰ میکرومولار تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرده است [۳۳]. در تحقیق حاضر نیز افزایش تعداد ماکروفاژها در گروه HD1 نسبت به گروه HD2 مشاهده می‌شود که این امر ناشی از افزایش میزان دوز سولفورموستارد است.
مطالعه در مدل‌های حیوانی در هر دو مورد مواجهه پوست و ریه با سولفورموستارد، نشان داد باعث ارتشاح لوکوسیت‌ها می‌شود که در زمان کوتاه بعد از مواجهه شروع شده و به‌طور پیوسته ادامه دارد. سولفورموستارد باعث آزادشدن سیتوکینازهای التهابی و فعالیت NF-κB در کراتینوسیت‌ها و ماکروفاژها می‌شود [۳۲، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷، ۳۸]. سولفورموستارد همچنین باعث تحریک فاگوسیتوزیس شده [۹] و در طولانی مدت باعث افزایش درصد مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌های $TCD^+_3$ و کاهش درصد سلول‌های $CD^+_{15}$ در بیماران شده است [۳۹]. از طرف دیگر *کوآن* نشان داد که سولفورموستارد باعث افزایش ترشح اینترلوکین-۸ توسط سلول‌های کراتینوسیت اپی‌درمال انسانی در محیط کشت می‌شود که این افزایش به‌عنوان یک مارکر برای اثر پیش‌التهابی سولفورموستارد به‌شمار می‌رود [۴۰]. در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد که آسیب ریوی پیش‌رونده و فیبروز ریوی ایجاد شده به‌وسیله سولفورموستارد در نتیجه اختلال در سیستم‌های کنترل ماکروفاژ- مونوسیت ریوی است [۶]. *احمدی* و همکاران مشاهده کردند که سیستم مونوسیت- ماکروفاژ با ترشح بیش از ۱۵۰ ماده ترشحی نقش مهم و مرکزی در شروع پاسخ‌های التهابی و آسیب‌های بافتی دارد [۴۱].
در این مطالعه دیده شد که نتایج حاصل از شمارش ماکروفاژها در گروه‌های پیش و پس نشان‌دهنده کاهش تعداد ماکروفاژها در این

گروه‌ها نسبت به گروه‌های HD بوده که این امر نشان‌دهنده عملکرد مثبت HMT در کاهش تعداد ماکروفاژها در این گروه‌ها است. از آنجایی که مولکول HMT دارای ۴ اتم نیتروژن نوکلئوفیل است به‌نظر می‌رسد این اتم‌ها با یون اپی‌سولفونیوم ایجاد شده توسط سولفورموستارد در خارج سلول واکنش داده و از ورود سولفورموستارد به درون سلول‌ها جلوگیری می‌کند [۲۱]. از سویی دیگر، HMT به‌دلیل خاصیت ضدعفونی‌کنندگی باعث جلوگیری از ارتشاح سلولی شده و در نتیجه مانع التهاب در اپی‌تلیوم ریه می‌شود و باعث حفاظت بافت ریه در برابر اثرات سمی سولفورموستارد خواهد شد. از طرفی HMT نقش محافظتی بیشتری *در شیشه* و *در زیوه* [۱۵، ۲۱، ۲۲] ایفا می‌کند که این امر با نتایج حاصل از کاهش تعداد ماکروفاژها در گروه‌های پیش، همسویی داشته و نشان‌دهنده نقش حفاظتی HMT در برابر سولفورموستارد است.

بررسی‌هایی که روی داروهای مختلف دیگر در برابر سولفورموستارد انجام شده نشان داده که NAC باعث کاهش ترشح تعداد زیادی از واسطه‌های التهابی می‌شود و چندین مطالعه از اثرات محافظتی NAC گزارش کرده‌اند؛ ولی هیچگونه اثر درمانی از NAC گزارش نشده است [۴۲، ۴۳]. همچنین مطالعات دیگر نشان دهنده آن است که ماکرولیدها و آنتی‌اکسیدان‌ها نیز ممکن است علایم تنفسی و عملکرد ریوی را در بیماران مواجهه با سولفورموستارد بهبود به‌بخشد و این امر به‌دلیل اثر ضدالتهابی آن است [۴۴]. تعدادی از محققان در مطالعه‌ای که روی جانبازان شیمیایی انجام دادند گزارش نمودند، تجویز گاماینترفرون می‌تواند در کاهش التهاب بافتی این گروه از جانبازان مفید باشد [۴۵]. مطالعات دیگر نشان دهنده نقش حفاظتی از NAC، داکسی‌سیلین و داروهای دیگر است [۴۳، ۴۶، ۴۷، ۴۸، ۴۹]. این مطالعات با نتایج تحقیق حاضر که نشان‌دهنده اثر محافظتی HMT در برابر سمّیت سولفورموستارد است، همسویی دارد. تحقیقاتی که در محیط کشت، روی سلول‌های اپی‌تلیال ریه انجام شده، نشان داد که افزودن HMT بعد از سولفورموستارد، هیچگونه نقش درمانی بر این سلول‌ها ندارد [۱۵]. این یافته‌ها با نتایج حاضر از این تحقیق مغایرت دارد، زیرا نتایج حاصل نشانگر نقش درمانی HMT نیز است.

## نتیجه‌گیری

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

## منابع


1- Sanderson BJS, Shield AJ. Mutagenic damage to mammalian cells by therapeutic alkylating agents. Mutat Res. 1996;355:41-57.

2- Greenberg S, Kamath P, Petrali J, Hamilton T, Garfield J, Garlick A. Characterization of the initial response of engineered human skin to sulphur mustard. Toxicol Sci. 2005;90(2):547-9.

3- Naraghi ZS, Mansouri P, Mortazavi M. A clinicopathological study on acute cutaneous lesions induced by sulphur mustard gas. Eur J Dermatol. 2005;15(3):140-5.

4- Papirmeister B, Feister AJ, Robinson ST, Ford RD. Medical defense against mustard gas: Toxic mechanism and pharmacalogical implications. USA: CRC Press; 1991.

5- Elsayed NM, Omaye ST. Biochemical changes in mouse lung after subcutaneous injection of the sulfur mustard 2-chloroethyl 4-chlorobutyl sulfide. Toxicology. 2004;199:195-206.

6- Emad A, Rezaian GR. Immunoglobulin and cellular constituents of the BAL fluid of patients with sulfur mustard gas induced pulmonary fibrosis. Chest. 1999;115:1346-51.

7- Emad A, Rezaian GR. The diversity of the effect of sulfur mustard gas inhalation: A respiratory system to years after a signal heavy exposure. Chest. 1997;112:374-8.

8- Emad A, Amad V. Elevated levels of mcp-1, mIp-α and mIp-1β in the Bronchoalveolar Lavage (BAL) fluid of patients with mustard gas induced pulmonary fibrosis. Toxicology. 2007;240:60-9.

9- Vavra A, Laurent CJ, Ngo V, Sweeney JF, Levitt JM. Sulfur mustard primes phagocytosis and degranulation in human polymorphonuclear leukocytes. Int Immuno Pharmacol. 2004;4:437-45.

10- Bahadori M. Fundamental histology. 4th ed. Tehran: Arjmand Publication; 2008. [Persian]

11- 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.

12- Anderson DR, Yourick JJ, Moeller RB, Petrali P, Young GD, Byers SL. Pathology changes in rat lungs following acute sulfur mustard inhalation. Inhal Toxicol. 1996;8:285-97.

13- Calvet JH, Jerreau PH, Levame M, Orto MP, Lorino H, Harf A, et al. Acute and chronic respiratory effects of sulfur mustard intoxication in guinea pig. Appl Physiol. 1994;76:681-8.

14- Chevillar M, Lainee P, Robineau P, Puchelle E. Toxic effects of sulfur mustard on respiratory epithelial cells in culture. Cell Bio Toxicol. 1992;8:171-81.

15- Lindasy CD, Hambrook JL. Protection of A549 cells against the toxic effects of sulfur by Hexamethylentetramine. Hum Exp Toxicol. 1997;16(2):106-14.

16- Sasser LB, Cushing JA, Dacre JC. Two generation reproductive study of sulfur mustard in rats. Reproduc Toxicol. 1996;10(4):311-9.

17- Manning KP, Skegg DCG, Stelland PM, Doll R. Cancer of the larynx and other occupation hazards of mustard gas workers. Clin Otholaryngol. 1981;6:165-70.

18- Ghanei M, Akhlaghpoor S, Mohammad MM, Aslani J. Tracheobronchial stenos is following sulfur mustard inhalation. Inhal Toxicol. 2004;16(13):845-9.

19- 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.

20- 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.

21- Andrew DJ, Lindsay CD. Protection of human upper respiratory tract cell lines against sulfur-mustard toxicity by Hexamethylentetramine. Hum Exp Toxicol. 1998;1797:373-9.

22- Diller WF. Medical phosgene problems and their possible solution. Occup Med. 1978;20:189-93.

23- Ostad SN, Kebriaeezadeh A, Zare-Kamali R, Abdollahi M,

Marzban H, Akhgori M. The protective effect of Indomethacine on ocular damages of sulfur mustard in the rabbit eye. Med. 2001;14(4):385-93.
24- Balali-Mood M, Hefazi M, Mohmodi M, Jalali I, Aharan D, Maleki M. Evaluation of delayed toxic effect of sulfur mustard poisoning in severely in toxicated Iranian veterans: A cross sectional study. Med Cardiff. 2005;3:1-32.
25- Ucar M, Korkmaz A, Reiter RJ, Yaren H, Oter S, Kurt B, et al. Melatonin alleviates lung damage induced by the chemical warfare agent nitrogen mustard. Toxicol Lett. 2007;173:124-31.
26- Xiugong GO, Radharaman R, Yan X, Peter EB, Prahati R. Inhibition of sulfur mustard induced cytotoxicity and inflammation by the macrolide antibiotic roxithromycin in human respiratory epithelial cells. Cell Biol. 2007;8(17):1-9.
27- Marshall RP, Anulty RJ, Laurent GJ. The pathogenesis of pulmonary fibrosis: Is there a fibrosis gene? Int J Biochem Cell Boil. 1997;29(1):107-20.
28- Rechenberger F, Schauer G, Kellner K, Sach U, Stiehl P, Winkler G. Different expression of endothelin in the bronchoalveolar lavage in patients with pulmonary diseases. Lung. 2001;179(3):163-74.
29- Gharaee-Kermani M, Garry B, Lukacs N, Huffnagle G, Egan RW, Phan SH. The Role of IL-5 in bleomycin induced pulmonary fibrosis. Leukocyte Biol. 1998;64(5):657-66.
30- Levitt JM, Lodhi IJ, Nguyen PK, Ngo V, Clift R, Hishaw DB, et al. Low-dose sulfur mustard primes oxidative function and induces apoptosis in human polymorphonuclear leukocytes. Int Immunopharmacol. 2003;3:747-56.
31- Millard CB, Bongiovanni R, Broomfield CA. Coetaneous exposure to bis-[2-chloroethyl]-sulfide results in nutrophil infiltration and increased solubility of 180000 Mr subepidermal collagens. Biochem Pharmacol. 1997;53(10):1405-12.
32- Das SK, Mukherjee S, Smith MG, Chatterjee D. Prophylactic protection by N-acetylcysteine against the pulmonary injury induced by 2-chloroethyl ethyl sulfide a mustard analogue. Biochem Mol Toxicol. 2003;17:177-84.
33- Lardot C, Dubois V, Lison D. Sulfur mustard upregulates the expression of interelukien-8 in cultured human keratinocytes. Toxicol Letters. 1999;110:29-33.
34- Wormser U, Sintov A, Brodsky B, Nyska A. Topical iodine preparation as therapy against sulfur mustard induced skin lesions. Toxicol Appl Pharmacol. 2000;169:33-9.
35- Ricketts KM, Santai CT, France JA, Graziosi AM, Dovel TD, Gazaway MY, et al. Inflammatory cytokine response in sulfur mustard exposed mouse skin. Appl Toxicol. 2000;20(1):73-6.
36- Sabourin CL, Danne MM, Buxton KL, Casillas RP, Schlager JJ. Cytokine, chemokine and matrix metalloproteinase response after sulfur mustard injury to weanling pig skin. Biochem Mol Toxicol. 2002;16:263-72.
37- Atkins KB, Lodhi IJ, Hurley LL, Hinshaw DB. N-actylcysteine and endothelial cell injury by sulfur mustard. J Appl Toxicol. 2002;20(1):125-8.
38- Chatterjee D, Mukherijee S, Smith MG, Dasa SK. Signal transduction events in lung injury induced by 2-chloroethyl ethyl sulfide: A mustard analog. J Biochem Mol Toxicol. 2003;17:114-21.
39- Mahmoudi M, Hefazi M, Rastin M, Balali-Mood M. Long term hematological and immunological complications of sulphur mustard poisoning in Iranian veterans. Int Immunopharmacol. 2005;5(9):1479-85.
40- Cowan FM, Broomfield CA, Smith WJ. Suppression of sulphur mustard increased IL-8 in human keratinocyte cell cultures by serine protease inhibitors: Implications for toxicity and medical countermeasures. Cell Biol Toxicol. 2002;18(3):147-53.
41- Ahmadi K, Shahriyari A. Effect of sulfur mustard on rat lung tissue in rats. Mil Med. 2005;7(3):219-23. [Persian]
42- Balali-Mood M, Hefazi M. Comparison of early and late toxic effects of sulfur mustard in Iranian veterans. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2006;99:273-82.
43- Anderson DR, Byers SL, Vesely KR. Treatment of sulfur mustard (HD) induced lung injury. Appl Toxicol. 2000;20:120-32.
44- Ghanei M, Harandi AA. Long term consequences from exposure to sulfur mustard: A review. Inhal Toxicol. 2007;19:451-9.
45- Aghanouri R, Ghanei M, Aslani J, Kievani-Amine H, Rastegar F, Karkhaneh A. Fibrogenic cytokine levels in bronchoalveolar lavage aspirates 15 years after exposure to sulfur mustard. Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2004;287(6):1160-4.
46- Kumar O, Sugendran K, Vijayaraghavan R. Protective effect of various antioxidants on the toxicity of sulphur mustard administered to mice by inhalation or percutaneous routes. Chem Biol Interac. 2001;134:1-12.
47- Amir A, Chapman S, Kadar T, Gozes Y, Sahar R, Allon N. Sulfur mustard toxicity in macrophages: Effect of dexamethasone. Appl Toxicol. 2000;20(1):51-8.
48- Babin MC, Ricketts K, Skvorak JP, Gaza M, Mitcheltree LW, Casillas RP. Systemic administration of candidate anti vesicants to protect against topically applied sulfur mustard in the Mouse in Ear Vesicant Model (MEVM). Appl Toxicol. 2000;20(1):141-4.
49- Guignabert C, Taysse L, Calvet JH, Planus E, Delamanche S, Galiacy S, et al. Effect of doxcycline on sulfur mustard induced respiratory lesions in guinea pigs. Am J Physio Lung Cell Mol Physiol. 2005;289:l67-74.