جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

Kowsar Medical Journal
Vol. 15, No. 3, Fall 2010
Pages: 123-128

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۵، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹
صفحات: ۱۲۸-۱۲۳

ارزیابی ایمونوهیستوشیمی توزیع بافتی گلوتاتیون S-ترانسفراز در اپی‌تلیوم راه هوایی

محمدرضا نورانی[۱] *PhD*، لیلا میرباقری[۲] *MSc*، مجید ابراهیمی[۱] *MSc*، سمانه یزدانی[۱] *MSc*، عباسعلی ایمانی فولادی[*] *PhD*

[*]مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

[۱]آزمایشگاه ژنومیک، مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

[۲]گروه بیوشیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

چکیده

اهداف: سولفورموستارد یک سلاح جنگی شناخته شده است که در جنگ تحمیلی علیه ایران مورد استفاده قرار گرفته است. سولفورموستارد می‌تواند آسیب‌های متعددی را در ارگان‌های مختلف مثل پوست و دستگاه تنفسی ایجاد نماید. در حال حاضر بیش از ۴۰هزار مصدوم شیمیایی به‌جامانده از جنگ تحمیلی از بیماری مزمن انسدادی تنفسی ناشی از گاز خردل رنج می‌برند. این ترکیب سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود. تاثیرات مضر رادیکال‌های آزاد اکسیژن اغلب توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدان تعدیل می‌شود. گلوتاتیون S-ترانسفرازها در بسیاری از عملکردهای سلولی دخالت دارند و مهم‌ترین ویژگیشان کارکرد آنها به عنوان تعدیل‌کننده استرس‌های اکسیداتیو در سیستم تنفسی است. این مطالعه با میزان بیان هدف بررسی این آنتی‌اکسیدان که احتمالا نقش مهمی در حفاظت سلول‌های اپی‌تلیوم جدار راه هوایی دارد، به انجام رسید.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی که بر روی ۱۲ نمونه بیوپسی راه هوایی از ۸ مصدوم شیمیایی و ۴ نمونه شاهد در سال ۱۳۸۸ انجام شد، از نمونه‌ها پس از تثبیت در پارافورمالدئید توسط کرایواستات برش‌های ۲۰ میکرونی تهیه و میزان بیان مولکول GSTp1 به روش ایمونوهیستوشیمی در نمونه‌های تجربی و کنترل بررسی و مقایسه شد.

یافته‌ها: مولکول GSTp1 در لایه اپی‌تلیال راه هوایی نمونه‌های کنترل با شدت بیان شد، درحالی‌که هیچ‌گونه عکس‌العملی نسبت به آنتی‌بادی فوق در نمونه‌های مصدومان شیمیایی به‌چشم نخورد.

نتیجه‌گیری: مولکول GSTp1 نقش مهمی در حفاظت سلول علیه استرس‌های اکسیداتیو از جمله مسمومیت با سولفورموستارد ایفا می‌کند. کاهش این دسته از آنزیم‌ها ممکن است دلیلی برای پیشرفت و تداوم بیماری مزمن انسدادی ریوی در مصدومان شیمیایی باشد.

کلیدواژه‌ها: سولفورموستارد، گلوتاتیون S-ترانسفراز، ایمونوهیستوشیمی، بیماری مزمن انسدادی تنفسی

Immuno-histochemical evaluation of Glutathione S-transferase in epithelium of human airway

Noorani M. R.[1] *PhD*, Mir Bagheri L.[2] *MSc*, Ebrahimi M.[1] *MSc*, Yazdani S.[1] *MSc*, Imani Fooladi A. A.* *PhD*

*Research Center of Molecular Biology, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[1]Genomics Laboratory, Chemical Injuries Research Center, Baqiyatallah University of Mdical Sciences, Tehran, Iran
[2]Biochemistry Department, Sciences & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract

Aims: Sulfur mustard, has been employed as a chemical weapon in imposed war against Iranian troops. At the present time there are more than 40000 people suffering from pulmonary lesions especially chronic obstructive pulmonary disease due to mustard gas in Iran. Sulfur mustard increases the endogenous production of reactive oxygen species. The toxicity of oxidative stress reduces by antioxidants and there is adequate evidence that antioxidants play a role in cellular protection against oxidative stress. This study was undertaken to investigate the expression of Glutathione S-transferase, an important free radical detoxification molecule which is found in human airways.

Materials & Methods: In this experimental study in year 1388, 4 normal and 8 sulfur mustard induced chronic obstructive pulmonary disease patients' bronchial biopsy were taken. The samples were fixed in praformaldehyde and cut in 20 micrometer slices by cryostat and then GSTp1 expression was compared using immunohistochemistry methods.

Results: All Sulfur mustard exposed samples were immune-negative for Glutathione S-transferase antibodies compared to control samples which expressed high amounts of it.

Conclusion: Results revealed that antioxidant expression is dramatically down-regulated in these patients. This antioxidant may play an important role in cellular protection against oxidative stress and its down-regulation due to mustard gas toxicity may be the cause of exacerbation and persistence of airway disease in these patients.

Keywords: Sulfur Mustard, Immunohistochemistry, Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Glutathione S-transferase

نویسنده مسئول: عباسعلی ایمانی فولادی. تمام درخواست‌ها باید به نشانی imanifouladi.a@gmail.com فرستاده شوند.

دریافت مقاله: ۸۹/۳/۱۲ پذیرش مقاله: ۸۹/۴/۱۵

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

کاربرد سلاح‌های شیمیایی در جنگ‌ها از قرن ۱۹ شروع شد و نخستین حمله وسیع گازی در جنگ جهانی اول توسط آلمانی‌ها صورت گرفت. تاکنون بارها در جنگ‌ها از عوامل شیمیایی استفاده شده است. این سلاح‌ها در جنگ عراق علیه ایران مکررا مورد استفاده قرار گرفت [۱].

یکی از فراوان‌ترین عوامل مورد استفاده در جنگ عراق علیه ایران سولفورموستارد بود که سبب مسمومیت حدود ۱۰۰هزار نفر از افراد نظامی و غیرنظامی شد و در حال حاضر حدود ۴۰هزار نفر از این مصدومان از عوارض ثانویه ناشی از این گاز رنج می‌برند [۲].

این ماده شیمیایی به‌صورت مایع روغنی محلول در حلال‌های آلی و درصورت خلوص بی‌رنگ و دارای بویی شبیه سیر است. سولفورموستارد عامل آلکیله‌کننده قوی است که با RNA، DNA، پروتئین و لیپیدهای غشا واکنش داده و آنها را آلکیله می‌کند [۳]. به‌نظر می‌رسد که آسیب به هسته و DNA مهم‌ترین مکانیزم آسیب‌رسانی این ماده باشد. با توجه به این‌که پس از گذشت حدود ۲۵ سال از استنشاق گاز خردل، مشتقات و متابولیت‌های آن کاملا از بدن دفع می‌شود، احتمالا دلیل عمده باقی‌ماندن عوارض، آسیب به ژنوم است. این ماده در دوزهای پایین سبب القای آپوپتوز و در دوزهای بالا سبب نکروز بافتی می‌شود [۴].

تماس با گاز خردل منجر به عوارض زودرس و دیررس می‌شود که نارسایی‌های ریوی، مهم‌ترین عارضه ثانویه بوده و عامل اصلی ناتوانی و مرگ‌ومیر در مصدومان مسموم‌شده با گاز خردل است.

مطالعات مختلف نشان داده است که این بیماران علایم بیماری ریوی موسوم به برونشیولیت انسدادی را نشان می‌دهند [۵، ۶، ۷]. همچنین مطالعات نشان می‌دهد که این افراد مستعد بیماری‌های ریوی مزمن نظیر آسم، برونشیت مزمن و برونشکتازی هستند. مطالعه دیگری بر پایه HRCT نشان می‌دهد که در این افراد، قطورشدن دیواره برونش‌ها ناشی از آسیب وارده توسط سولفورموستارد است [۸].

سولفورموستارد با گلوتاتیون (GSH) داخل سلولی واکنش داده و سبب اتمام یا کاهش میزان آن در داخل سلول می‌شود. با کاهش GSH، میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) افزایش پیدا می‌کند [۹]. این‌گونه رادیکال‌های مضر موجب آسیب‌رسانی اکسیداتیو در شماری از ترکیبات سلولی نظیر لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند [۱۰] و در نهایت، این وقایع آسیب‌رسان، موجب فعال‌شدن پاسخ‌های اکسیداتیو استرس می‌شوند [۱۱]. استرس اکسیداتیو و التهاب مزمن عوامل مهم در ایجاد بیماری ریوی انسدادی مزمن (COPD) هستند [۱۲، ۱۳]. رادیکال‌های آزاد و فشارهای اکسیداتیو توسط برخی آنتی‌اکسیدان‌ها مهار می‌شوند [۱۴].

رادیکال آزاد به اتم یا مولکولی گفته می‌شود که دارای حداقل یک الکترون جفت‌نشده بوده و بتواند به‌طور مستقل وجود داشته باشد. چنین ماده‌ای از نظر انرژی ناپایدار است و طول عمر کوتاهی دارد. بنابراین با حذف یا جفت‌کردن الکترون‌های اطرافش می‌تواند به پایداری برسد. باقی‌مانده مولکولی که مورد حمله این رادیکال قرار گرفته، یک الکترون جفت‌نشده دارد و رادیکال آزاد محسوب می‌شود. بدین‌ترتیب حضور رادیکال آزاد می‌تواند منشا یک سری واکنش‌های زنجیره‌ای انتقال الکترون شود.

اکسیژن فعال که توسط عملکرد معمول اجزای سلول‌ها مانند میتوکندری و متابولیسم آن تولید می‌شود، از راه‌های مختلف به پروتئین و چربی و اسیدهای نوکلئیک آسیب می‌رساند. مهم‌ترین مکانیزم‌های آسیب‌رسانی شامل آسیب‌رسیدن به اسیدهای نوکلئیک و DNA و ایجاد جهش، آسیب و تخریب پروتئین‌ها، اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع موجود در غشا و تغییر در ساختمان و فعالیت غشا است [۱۵].

در مورد نقش رادیکال‌های آزاد در ایجاد بیماری‌های راه هوایی چنین بیان می‌شود که؛ اپی‌تلیوم راه هوایی می‌تواند مستقیما ROS/RNS (رادیکال‌های آزاد اکسیژن/رادیکال‌های آزاد نیتروژن) تولید کند. سلول‌های اپی‌تلیال نای و برونش در پاسخ به تحریکات، H_2O_2 آزاد می‌کنند. به‌علاوه این سلول‌ها قادر به تولید ROS/RNS درون‌سلولی نیز هستند که به‌عنوان مولکول‌های پیام‌رسان عمل می‌کنند و تغییراتی را در ترشح موکوس به‌دنبال دارند. برهم‌کنش‌های فیزیولوژیکی دفاعی که در راه‌های هوایی در پاسخ به ذرات تنفسی اتفاق می‌افتد، در التهاب راه‌های هوایی و بیماری‌های ریوی نقش دارند. گرچه مکانیزم دقیق این استراتژی دفاعی که سبب بیماری‌های التهابی راه‌های هوایی نظیر آسم آلرژیک و غیرآلرژیک، برونشیت مزمن، COPD، سیستیک فیبروزیز و سندروم نقص تنفسی حاد (ARDS) می‌شود هنوز کاملا مشخص نشده است، اما به‌نظر می‌رسد تغییرات در بیان ژن‌های درگیر در التهاب و در نهایت بیان محصولات آنها، نقش مهمی در این فرآیند ایفا می‌کند.

ROS/RNS، نقطه حیاتی در مسیرهای پیام‌رسان القایی است که بیان پروتئین‌های ایجادکننده التهاب را کنترل می‌کنند. اپی‌تلیوم راه هوایی به حضور ROS/RNS پاسخ می‌دهد که این پاسخ‌ها شامل افزایش موکوس، بیان مولکول‌های چسبنده و آزادسازی سیتوکین‌هاست و اغلب این تغییرات با تغییر بیان ژن‌ها در سلول تنظیم می‌شود.

گلوتاتیون S-ترانسفرازها (GSTs) در بسیاری از عملکردهای سلولی دخالت دارند و مهم‌ترین ویژگی‌شان، نقش آنها به‌عنوان متعادل‌کننده استرس‌های اکسیداتیوی در سیستم تنفسی است.

GSTها، پروتئین‌های دایمری هستند که به‌وسیله خانواده متمایزی از ژن‌ها کد می‌شوند و شباهت ساختاری آنها محدود است. این آنزیم‌ها دارای چندین عملکرد هستند و در فرآیندهای سم‌زدایی مختلف سلول‌ها شرکت می‌کنند [۱۶]. مهم‌ترین ویژگی آنها، نقشی است که به‌عنوان آنزیم‌های فاز II ایفا می‌کنند و کونژوگه‌شدن GSH را با طیف وسیعی از الکتروفیل‌ها شامل بسیاری از موتاژن‌ها، کارسینوژن‌ها،

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

عوامل ضدسرطان و متابولیت‌های آنها کاتالیز می‌کنند [۱۷]. حاصل این کونژوگاسیون تشکیل محصولات هیدروفیلیکی است که خاصیت آن، حلالیت کم در چربی، قطبیت بالا و قابلیت حذف سریع و همچنین کاهش سمیت است.

GSTها در انسان براساس ویژگی‌های ساختاری، ایمونولوژیکی و بیوشیمیایی به ۴ کلاس آلفا، مو، پی و تتا تقسیم می‌شوند. GSTهای انسانی نه‌تنها در سیتوپلاسم، بلکه در میتوکندری یا هسته نیز وجود دارند [۱۸].

هر بافت، مجموعه ویژه و اختصاصی از GST را در خود دارد. کبد دارای بیشترین فعالیت آنزیمی و بیشترین اشکال مولکولی آنزیم در مقایسه با سایر بافت‌های بدن است. انواع GST در بافت‌های بدن اختصاصی بوده و در مراحل مختلف تکامل نیز تغییر می‌کنند. برای مثال GSTP در کبد بالغ فقط در اپی‌تلیوم کیسه صفرا بیان می‌شود، در حالی‌که در کبد جنین به‌طورکامل بیان می‌شود. دسته آلفا در کبد [۱۹]، کلیه و روده کوچک فراوان است و در جفت، پستان، ریه، گلبول قرمز و روده کوچک به‌خوبی بیان می‌شود [۲۰].

ایزوفرم‌های مختلف GST عبارتند از GSTM1، GSTT1، GSTP1، GSTA1 که به‌ترتیب روی کروموزوم‌های 1P13.3، 22Q11,2، 11Q13 و 6P12,1 قرار دارند [۲۱]. GSTP فراوان‌ترین GST انسانی است و تنها عضو این کلاس یعنی GSTP1، پروتئینی همودیمریک است و تقریبا در تمام بافت‌ها بیان می‌شود. اما به‌طور عمده در طحال، قلب و بافت ریه یافت می‌شود [۲۲]. در بیماری، GST موجب افزایش سنتز پپتیدهای لکوترین و در نتیجه سبب تشدید بیماری می‌شود [۲۳].

با توجه به این‌که احتمال دارد تغییر ساختار راه هوایی در جانبازان شیمیایی، ناشی از افزایش سطح استرس‌های اکسیداتیوی باشد و با توجه به این‌که مسمومیت با موستارد با کاهش ذخیره گلوتاتیون همراه است، هدف از این مطالعه بررسی سطح بیان پروتئین گلوتاتیون S-ترانسفراز در اپی‌تلیوم راه هوایی جانبازان شیمیایی با روش ایمونوهیستوشیمی و مقایسه آن با نمونه‌های کنترل بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی است که در سال ۱۳۸۸ انجام شد. جامعه مورد مطالعه شامل دو گروه مصدومان شیمیایی دارای سابقه مواجهه با سولفورموستارد و افراد کنترل بود که به روش نمونه‌گیری مبتنی بر هدف انتخاب شدند. گروه مصدومان، افرادی بودند که ناراحتی‌های ریوی آنها ناشی از مسمومیت مستند قبلی با سولفورموستارد در جنگ ایران و عراق، مورد تایید پزشکان فوق تخصص ریه قرار گرفته بود. گروه کنترل نیز شامل افرادی بودند که به‌دلیل ناراحتی ریوی و به دستور پزشک متخصص تحت عمل برونکوسکوپی قرار گرفته بودند، ولی براساس عکس‌های ریوی (اسکن ریه) و داده‌های برونکوسکوپی هیچ‌گونه عارضه شناخته‌شده ریوی را نشان نمی‌دادند. افراد سیگاری، بیماران مبتلا به سرطان ریه، آسم، سل و افراد مسن از مطالعه ما حذف شدند.

نمونه‌های بیوپسی بافت‌های ریوی از بخش برونکوسکوپی یکی از بیمارستان‌های نظامی شهر تهران جمع‌آوری شدند. نمونه‌های مورد نظر پس از اخذ موافقت از کمیته اخلاق پزشکی این بیمارستان و تحت نظارت مستقیم پزشکان فوق تخصص ریه و با پنس‌های مخصوص در حین برونکوسکوپی جمع‌آوری شدند. تعداد ۸ نمونه بیوپسی مصدوم شیمیایی و ۴ نمونه کنترل برای انجام آزمایشات ایمونوهیستوشیمی، جمع‌آوری و در محلول فیکساتیو بافر پارافورمالدئید ۴٪ قرار داده شدند و سپس تا زمان انجام آزمایشات به محلول ساکروز ۳۰٪ انتقال یافتند.

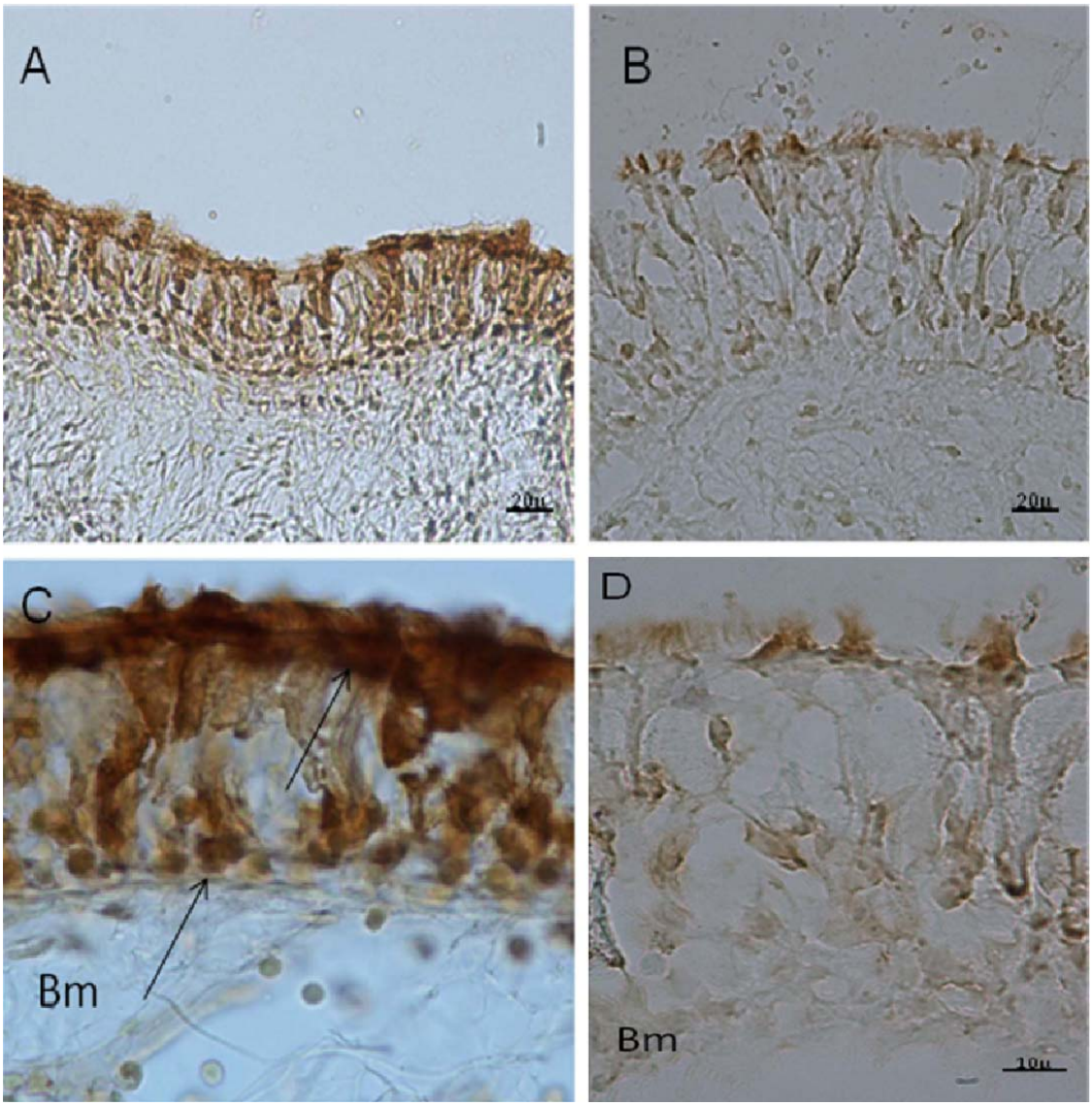
مطالعه ایمونوهیستوشیمی: برش‌های یخی با میکروتوم کرایواستات به ضخامت ۲۰ میکرومتر تهیه و روی اسلایدهای پوشش‌داده‌شده با سیلان قرار گرفتند. اسلایدهای حاوی برش‌ها با آنتی‌بادی اولیه مونوکلونال ضدموشی IGg GSTp1 (سانتاکروز؛ ایالات متحده) با غلظت ۱:۲۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۱۲ ساعت انکوبه شدند و پس از شستشو با PBS، آنتی‌بادی ثانویه ضدموشی IGg بیوتینه به‌مدت ۲ ساعت انکوبه شده و سپس با سیستم آویدین- بیوتین و DAB، محل‌های حضور کمپلکس آنتی‌ژن- آنتی‌بادی قابل رویت شدند و با میکروسکوپ نوری مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

هیستوپاتولوژی عمومی: در نمونه نرمال، سلول‌های اپی‌تلیال به‌صورت منظم در کنار یکدیگر قرار گرفته بودند، سلول‌های گابلت (Gc) به‌صورت حفرات خالی در فواصل بین سلول‌های اپی‌تلیال به چشم می‌خوردند. سطح لومینال اپی‌تلیوم از مژه (Ci) پوشیده شده بود. در بررسی بافت‌شناسی دیواره راه هوایی جانبازان شیمیایی، تفاوت آشکاری در ضخامت لایه اپی‌تلیوم نسبت به نمونه نرمال به چشم می‌خورد که ناشی از تغییر ساختار در اثر استنشاق گاز خردل است. هایپرتروفی سلول‌های گابلت در لایه اپی‌تلیوم راه هوایی جانبازان شیمیایی نسبت به نمونه‌های نرمال کاملا مشهود بود (شکل ۱).

بیان پروتئین GST: GSTP1 یکی از آنتی‌اکسیدانت‌های عمده راه‌های هوایی انسان است. این ایزوآنزیم در سلول‌های لایه اپی‌تلیال مژک‌دار دیواره راه هوایی به وفور یافت می‌شود. بیان این پروتئین در سلول‌های لایه اپی‌تلیال دیواره راه هوایی نمونه کنترل (غیرشیمیایی) شامل سلول‌های استوانه‌ای کاذب مژه‌دار و سلول‌های پایه‌ای مجاور غشای پایه با شدت بالا مشاهده شد. راس سلول‌های مژه‌دار مستقر در کناره لومینال، مولکول GST را با شدت بیشتری بیان می‌کند (شکل ۱، A، C). اما در دیواره راه‌های هوایی جانبازان شیمیایی این ملکول با شدت بسیار در حاشیه مژه‌دار اپی‌تلیوم راه هوایی مشاهده شد که

بیانگر عدم حضور این ملکول موثر در حذف رادیکال‌های آزاد است (شکل ۱، D).



شکل ۱) تصاویر میکروسکوپ نوری از برش‌های بیوپسی راه هوایی انسان که بر علیه آنتی‌بادی گلوتاتیون S-ترانسفراز رنگ‌آمیزی شده است.
سلول‌های استوانه‌ای مطبق کاذب و سلول‌های لایه بازال (پیکان‌ها) عکس‌العمل ایمنی شدیدی را نسبت به آنتی‌بادی گلوتاتیون S-ترانسفراز بیان می‌کند (A، C). این پروتئین بسیار ضعیف در لبه بالایی یا کنار لومینال اپی‌تلیوم دیواره راه هوایی جانبازان شیمیایی بیان می‌شود که در مقایسه با نمونه کنترل بسیار بسیار ضعیف است (B، D). به ضخامت اپی‌تلیوم در نمونه‌های شیمیایی و کنترل توجه نمایید. ضخامت لایه اپی‌تلیوم نمونه شیمیایی نسبت به نمونه کنترل حدودا دوبرابر شده است (Bm=غشای پایه).

بحث

ویژگی اساسی سلول‌های یوکاریوتی و پروکاریوتی، توانایی القای سیستم دفاعی در پاسخ به شرایط حاد محیطی است. به‌عنوان مثال، سلول‌های یوکاریوتی در پاسخ به تغییر در میزان اکسیژن‌های واکنش‌پذیر سلولی تحت شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک، قادر به تنظیم و هماهنگ‌کردن بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان بخشی از سیستم دفاعی خود هستند. ملکول‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط طبیعی به‌طور همزمان و در یک راستا برعلیه مواد اکسیدان عمل می‌کنند. اما به‌نظر می‌رسد که عملکرد این سیستم دفاعی بسیار پیچیده است. این سیستم از عوامل آنتی‌اکسیداتیو بسیاری تشکیل شده است و تمام عوامل موجود در این سیستم به‌نحوی روی یکدیگر اثر می‌گذارند و اغلب به‌طور مشترک عمل می‌کنند. از طرفی عوامل آنتی‌اکسیداتیو به‌جای همدیگر نیز عمل کرده و در غیاب یکدیگر اکسیدان‌ها را پاک‌سازی می‌کنند. استرس اکسیداتیو هنگامی ایجاد می‌شود که تولید ROS، از ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدان‌های سلول برای برداشتن ROS بیشتر شود. بنابراین شناخت مسیرهایی که سبب القای پاسخ‌های آنتی‌اکسیدان می‌شوند، باعث پیشرفت استراتژی‌های محافظت‌کننده در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود [۲۴].

نتایج ایمونوهیستوشیمی در مطالعه ما نشان داد که میزان بیان پروتئین GSTp1 در سلول‌های اپی‌تلیوم راه هوایی مصدومان

شیمیایی به نسبت افراد کنترل کاهش یافته است. در حالی که بیان پایه آن در نمونه‌های کنترل سلول‌های اپی‌تلیوم کاملا به‌وضوح دیده می‌شود.

ابراهیمی و همکاران در تحقیق مشابهی حضور مولکول آنتی‌اکسیدان را در دیواره راه هوایی جانبازان شیمیایی بررسی کردند و کاهش بیان آنتی‌اکسیدان را در نمونه شیمیایی در مقایسه با نمونه کنترل گزارش دادند [۲۵] که مشابه یافته ما در این تحقیق است.

سیسکو آنتیلا و همکاران، حضور آنزیم GST را در بافت ریه به‌خصوص برونش‌ها، سلول‌های ترشح‌کننده موکوس و سلول‌های آلوئولی تایید کردند. آنها پس از بررسی پلی‌مورفیسم‌های GST به این مطلب دست یافتند که بیشترین میزان این پروتئین در سلول‌های اپی‌تلیوم مطبق مژک‌دار برونش‌ها وجود دارد و از نوع GSTp1 است [۲۶]. در رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی نیز، تراکم زیاد این پروتئین تایید شد که مشابه یافته ما در نمونه‌های کنترل است [۲۷].

از طرفی، سایر پلی‌مورفیسم‌های GST نیز در بیماری‌های ریوی نقش دارند. به‌عنوان مثال بررسی پروتئین GSTO (امگا) با استفاده از تکنیک وسترن‌بلات در ماکروفاژهای آلوئولی به‌دست‌آمده از ترشحات ریوی بیماران مبتلا به COPD در مقایسه با افراد سیگاری دارای ریه سالم، کاهش حضور این پروتئین را نشان داد [۲۸].

هلزان در سال ۲۰۰۸ نشان داد که در افراد مبتلا به سرطان ریه در اثر مواجهه با بنزوپیرن، فعالیت آنزیم GSTP1 کاهش می‌یابد. مهم‌ترین علت کاهش فعالیت این آنزیم تبدیل کدون آدنین به گوانین در اگزون شماره ۵ و تغییر اسیدآمینه ایزولوسین به والین در جایگاه فعال‌سازی است. بر این اساس در بیماران مبتلا به سرطان ریه، GSTP1 توانایی تعدیل اثرات سیتوتوکسیک بنزوپیرن را دارد [۲۹]. کاهش بیان این مولکول در موارد بالا، مشابه با بیان این مولکول در جانبازان شیمیایی است. با توجه این‌که در آلکیلاسیون DNA، دو گوانین موجود روی یک رشته یا دو رشته مکمل DNA توسط سولفورموستارد پیوند عرضی گوانین- آلکیل- گوانین ایجاد می‌کنند [۳۰]، به‌نظر می‌رسد کاهش سطح این پروتئین در دیواره راه هوایی جانبازان شیمیایی را می‌توان در جهش ژنتیکی کدون‌های ناشناخته جستجو کرد که باعث اختلال در مراحل نسخه‌برداری و ترجمه می‌شود.

با توجه به این‌که استرس‌های اکسیداتیو از عوامل ایجاد بیماری‌های آلرژی راه هوایی هستند و در بیماری آسم کاهش توانایی آنزیم در جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد، ممکن است دلیلی بر پیشرفت و تداوم بیماری باشد [۳۱]، پس می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که کاهش این آنزیم ممکن است دلیلی برای پیشرفت و تداوم بیماری COPD در جانبازان شیمیایی باشد. این پروتئین با شدت بیشتری در اپی‌تلیوم راه هوایی بیان می‌شود که نشانگر حضور پایه آنها در نمونه‌های کنترل است تا بتوانند نسبت به جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد اکسیژن اقدام کنند و از صدمه آنها به DNA جلوگیری نمایند.

در این پروژه، بیان مولکول GST در جانبازان شیمیایی کاهش قابل ملاحظه‌ای نسبت به نمونه کنترل نشان داد که دلیل محکمی بر ناتوانی فرد در مقابله با آسیب‌های اکسیداتیوی و در نتیجه تداوم بیماری است. نتایج این مطالعه با عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها که در مصدومان شیمیایی دیده می‌شود، مطابقت دارد [۱۰]. *قانعی* و همکاران نشان دادند داروی N- استیل‌سیستئین که داروی ازبین‌برنده موکوس با فعالیت آنتی‌اکسیدانی است، علایم بالینی مصدومان شیمیایی را کاهش داده و باعث بهبود آزمون عملکرد ریوی می‌شود [۷].

نتیجه‌گیری

مصدومان شیمیایی همچنان از عدم تعادل اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها به‌دلیل کاهش آنتی‌اکسیدان‌ها رنج می‌برند. تجویز داروها و مواد خوراکی حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند با کاهش آهنگ رشد بیماری باعث بهبود بیماری شود.

منابع

1- Aghanouri R, Ghanei M, Aslani J, Keivani-Amine H, Rastegar F, Karkhane A. Fibrogenic cytokine levels in bronchoalveolar lavage aspirates 15 years after exposure to sulfur mustard. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2004;287(6):1160-4.

2- Khateri S. Incidence of lung, eye and skin lesions as late complications in 34,000 Iranians with wartime exposure to mustard agent. J Occup Environ Med. 2003;45(11):1136-43.

3- Renshaw B. Observation on the role of water in the susceptibility of human skin to injury by vesicant vapors. J Invest Dermatol. 1947;9:75-85.

4- Rosenthal DS, Simbulan-Rosenthal CM, Iyer S, Spoonde A, Smith W, Ray R, et al. Sulfur mustard induces markers of terminal differentiation and apoptosis in keratinocytes via a $Ca2^{+}$-calmodulin and caspase-dependent pathway. J Invest Dermatol. 1998;111:64-71.

5- Ghanei M. Public health status of the civil population of Sardasht 15 years following large-scale wartime exposure to sulfur mustard. J Burns. 2003;2(1):7.

6- Ghanei M. Tracheobronchomalacia and air trapping following mustard gas exposure. Am J Respir Crit Care Med. 2006;173:304-9.

7- Ghanei M, Shohrati M. N-acetylcysteine improves the clinical conditions of mustard gas-exposed patients with normal pulmonary function test. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2008;103(5):428-32.

8- Beheshti J, Mark EJ, Akbaei HM, Aslani J, Ghanei M. Mustard lung secrets: Long term clinicopathological study following mustard gas exposure. Pathol Res Pract. 2006;202:739-44.

9- Korkmaz A, Yaren T, Oter S. Molecular targets against mustard toxicity: Implication of cell surface receptors, peroxynitrite production and PARP activation. Arch Toxicol. 2006;80(10):662-70.

10- Jafari M. Dose- and time-dependent effects of sulfur mustard on antioxidant system in liver and brain of rat. Toxicology. 2007;231(1):30-9.

11- Paromov V, Suntres Z. Sulfur mustard toxicity following dermal exposure: Role of oxidative stress and antioxidant

therapy. J Burns Wound. 2007;7:7.
12- Greenberg SD, Atmar RL. Chronic airway disease: The infection connection. Trans Am Climatol Clin Assoc. 1999;110:38-50.
13- Drost EM, Skwarski KM, Sauleda J, Soler N, Roca J, Agusti A, MacNee W. Oxidative stress and airway inflammation in severe exacerbations of COPD. Thorax. 2005;60(4):293-300.
14- Suhua H, Luis A, Hamid B, Mark E. Smulson protection by antioxidants against toxicity and apoptosis induced by the sulphur mustard analog 2-chloroethylethyl sulphide in Jurkat T cells and normal human lymphocytes. Br J Pharmacol. 2004;141:795-802.
15- Wohaieb SA, Godin DV. Alteration in free radical tissue defense mechanism in streptozotosin induced diabetes in rat: Effects of insulin treatment. J Free Radic Biol Med. 1 987;360:10-4.
16- Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, Hayes JD, Di Ilio C, Ketterer B, et al. Nomenclature for human glutathione transferases. Biochem J. 1992;282:305-6.
17- Combes B, Stakelum GS. A liver enzyme that conjugates sulfobromophthalein sodium with glutathione. J Clin Invest. 1951;40:981-8.
18- Awasthi YC, Dao DD, Saneto RP. Interrelationship between anionic and cationic forms of glutathione S-transferases of human liver. Biochem J. 1930;1:1-10.
19- Adang AE, Brussee J, Meyer DJ, Coles B, Ketterer B, Gen A, et al. Substrate specificity of rat liver glutathione S-transferase isoenzymes for a series of glutathione analogues, modified at the gamma-glutamyl moiety. Biochem J. 1988;255:721-4.
20- Terrier P, Townsend Al, Coindre JM, Triche TJ, Cowan KH. An immunohistochemical study of pi class glutathione S-transferase expression in normal human tissue. Am J Pathol. 1990;137(4):845-53.
21- Kentaro O, Vuichiro U, Rie N, Masaharu H, Shuichi M. Glutathione S- A1 polymorphism as a risk factor for smoking-related type 2 diabetes among Japanese. Toxicol Lett. 2008;178:143-5.
22- Haddad J, Safieh-Garabedian B, Saade NE, Lauterbach R. Inhibition of glutathione-related enzymes augments LPS-mediated cytokine biosynthesis: Involvement of an IKB/NF-kB sensitive pathway in the alveolar epithelium. Int Immunopharmacol. 2002;2:1567-83.
23- Mannen B, Danielson UH. Glutathione transferase (human placenta). Methods Enzymol. 1981;77:231-5.
24- Thomas G, Maria-Emily G, Demetrios K, Daniel S. NF-kB/IkB signal transduction in the generation and treatment of human cancer. Cancer Lett. 2002;181:1-9.
25- Ebrahimi M, Roudkenar MH, Imani Fooladi AA, Halabian R, Ghanei M, Kondo H. Discrepancy between mRNA and protein expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in bronchial epithelium induced by sulfur mustard. J Biomed Biotechnol. 2010;8(2):1-3.
26- Sisko A, Ari H, Harri V, Kirsti H, John D. Immunohistochemical localization of glutathione S-transferases in human lung. Cancer Res. 1993;53:5643-8.
27- Yin Z, Ivanov VN, Habelhah H, Tew K, Ronai ZE. Glutathione S-transferase p elicits protection against H2O2-induced cell death via coordinated regulation of stress kinases. Cancer Res. 2000;60(15):4053-7.
28- Terttu HH, Mirva J, Peltoniemi1 P, Rytila H, Kaisa M, Philip G. Glutathione S-transferase omega in the lung and sputum supernatants of COPD patients. Respir Res. 2007;8(48):1-9.
29- Helen N, Honma E, Capitani M, Perroud JA, Barbeiro I. Influence of p53 codon 72 exon 4, GSTM1, GSTT1 and GSTP1B polymorphisms in lung cancer risk in a Brazilian population. Lung Cancer. 2008;61(2):152-62.
30- Lawley PD. Inactivation of bacteriophage T7 by mono- and di-functional sulfur mustards in relation to cross-linking and depurination of bacteriophage DNA. J Mol Biol. 1962;39:181-98.
31- Vuokko L, Kinnula D. Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases. Am J Respir Crit Care Med. 2003;167:1600-19.