

## مطالعه هیستوپاتولوژیک آثار تاخیری گاز خردل بر چشم

خسرو جدیدی<sup>۱</sup> MD، علیرضا صادقی پور<sup>۲</sup> MD، مصطفی نادری<sup>\*</sup> MD، مهران حقیقی<sup>۱</sup> MD، پرویز رفیع زاده<sup>۱</sup> MD

\*گروه چشم پزشکی، بیمارستان بقیه...<sup>(ع)</sup>، دانشگاه علوم پزشکی بقیه...<sup>(ع)</sup>، تهران، ایران  
<sup>۱</sup>گروه چشم پزشکی، بیمارستان بقیه...<sup>(ع)</sup>، دانشگاه علوم پزشکی بقیه...<sup>(ع)</sup>، تهران، ایران  
<sup>۲</sup>گروه پاتولوژی، بیمارستان رسول اکرم<sup>(ص)</sup>، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

### چکیده

**اهداف:** تماس چشم با گاز خردل (موستارد) به تخریب شدید می‌انجامد. آثار تاخیری گاز خردل بر چشم تاکنون به صورت جزئی توضیح داده نشده است. مطالعه حاضر با هدف تشریح تاثیرات هیستوپاتولوژیک و ایمونوپاتولوژیک گاز خردل بر چشم و تلاش برای یافتن توجیهی برای این آثار انجام شد.

**روش‌ها:** این مطالعه توصیفی - موردی بین سال‌های ۷۶ تا ۸۶ روی نمونه‌های قرنیه و ملتحمه ۲۲ مصدوم شیمیایی مبتلا به کراتوپاتی تاخیری ناشی از گاز خردل که نیازمند به درمان جراحی بودند، در بیمارستان بقیه...<sup>(ع)</sup> شهر تهران انجام شد. افراد به روش نمونه‌گیری ساده انتخاب شدند. در ۷ مورد هر دو چشم تحت عمل جراحی قرار گرفتند و جمعا ۲۹ نمونه به بخش پاتولوژی تحویل شد. ۲۹ نمونه برداشته شده از لیمبوس توسط میکروسکوپ نوری، ایمونوفلورسنس و الکترونی بررسی شد.

**یافته‌ها:** بررسی‌های هیستولوژیک نشان‌دهنده التهاب مزمن بود. پیش‌روی اپی‌تلیوم ملتحمه بر قرنیه، نازک‌شدن اپی‌تلیوم و کاهش سلول‌های گابلت در ملتحمه، شایع‌ترین یافته‌های میکروسکوپ نوری بودند، در حالی که در میکروسکوپ الکترونی ادم قرنیه، تخریب غشای پایه و واکوئلیزاسیون سیتوپلاسم یافته‌های بارز بودند. نتایج بررسی با میکروسکوپ ایمونوفلورسنت غیراختصاصی بود.

**نتیجه‌گیری:** هیچ یافته اختصاصی و تشخیصی در بررسی هیستوپاتولوژیک یا میکروسکوپی برای آثار سوء تاخیری گاز خردل در چشم وجود ندارد. براساس مشاهدات ما، ایمنی سلولی یا هومورال نمی‌توانند تمام آثار تخریبی ناشی از گاز خردل را توجیه کنند. به نظر می‌رسد اثر آلكالیزان اولیه گاز خردل بر سلول، اساس آسیب‌زایی تاخیری آن باشد.

**کلیدواژه‌ها:** گاز خردل، پاتولوژی، چشم

## Histopathological study of delayed mustard gas keratopathy

Jadidi Kh.<sup>1</sup> MD, Sadeghipour A. R.<sup>2</sup> MD, Naderi M.\* MD, Haghighi M.<sup>1</sup> MD, Rafizade P.<sup>1</sup> MD

\*Department of Ophthalmology, Baqiyatallah Hospital, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Baqiyatallah Hospital, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Pathology, Rasoul Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### Abstract

**Aims:** Ocular injury by mustard gas (HD) leads to severe eye damage. Long term characterization of mustard gas ocular toxicity has not been described in detail yet. Present study was performed in order to explore chronic histological and immunopathologic effects of HD ocular exposure and try to find etiology for these effects.

**Methods:** This descriptive case study was performed on corneal and conjunctival samples of 22 chemical injured victims with late-onset keratopathy who needed surgical treatment between 1997 to 2007 in Baqiyatallah hospital. Samples were selected by simple sampling method. Both eyes underwent surgery in 7 cases; therefore 29 samples were delivered to pathology section. 29 limbus specimens were studied by light, direct immunofluorescence and electron microscopy.

**Results:** Histological findings revealed signs of chronic inflammation. Conjunctivalization, epithelial thinning and goblet cell depletion in light microscopy as well as corneal edema, basement membrane destruction and cytoplasmic vacuolization in electronic microscopy were dominant findings. Fluorescent microscopy demonstrated nonspecific changes.

**Conclusion:** There are no diagnostic histopathologic or microscopic findings in late-onset HD ocular injuries. According to our observations, neither humoral nor cell mediated immunity could explain all histological damages. It seems that primary alkalizing injury is the keystone of HD late-onset pathogenesis.

**Keywords:** Mustard Gas, Pathology, Eye

## مقدمه

برای درمان بیماری‌های یک‌طرفه نقص لیمبوس است. این پیوند باعث برگشت سلول‌های با فنوتیپ اپیتلیوم قرنیه به صورت یکدست همراه با پسرفت واسکولاریزاسیون و التهاب قرنیه می‌شود، اما بهبودی در حدت بینایی ایجاد نمی‌کند [۴].

از آنجایی که ضایعات کراتوپاتی ناشی از گاز خردل اکثراً دوطرفه هستند، در مطالعه انجام شده در یکی از بیمارستان‌های نظامی شهر تهران، پیوند آلوگرافت لیمبوس صورت گرفت که نتیجه این مطالعه التیام اپیتلیوم آسیب‌دیده قرنیه و بهبود علائم بالینی بیماران بود [۵]. این مطالعه با هدف بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک ایجاد شده در قرنیه بیماران مبتلا به کراتوپاتی تاخیری ناشی از گاز خردل که کاندید عمل پیوند آلوگرافت لیمبوس بودند، انجام شد.

## روش‌ها

این مطالعه از نوع توصیفی-موردی است که بین سال‌های ۷۶ تا ۸۶ روی نمونه‌های قرنیه و ملتحمه ۲۲ مصدوم شیمیایی مبتلا به کراتوپاتی تاخیری ناشی از گاز خردل (DMGK) که نیازمند به درمان جراحی بودند، انجام شد. این افراد به روش نمونه‌گیری ساده انتخاب شدند. در ۷ مورد هر دو چشم تحت عمل جراحی قرار گرفتند، بنابراین جمعا ۲۹ نمونه به بخش پاتولوژی تحویل شد.

از بیماران کاندید برای پیوند قرنیه لیمبوس، در هنگام جراحی از ناحیه لیمبوس، پریفرال قرنیه و ملتحمه درگیر، بیوپسی تهیه شد و نمونه‌های حاصل برای بررسی در ۳ سطح با میکروسکوپ نوری، فلورسانس و الکترونی به شرح ذیل به بخش پاتولوژی ارسال شدند: ۱- نمونه اول در محلول فرمالین ۱۰٪ برای بررسی با میکروسکوپ نوری آماده شد. از این نمونه، بلوک پارافینی تهیه شد و به دو روش H&E و PAS رنگ‌آمیزی شد. طی انجام مطالعه از سایر رنگ‌های اختصاصی نظیر تریکروم نیز استفاده شد. این نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری (Olympus BH-2؛ ژاپن) بررسی شدند.

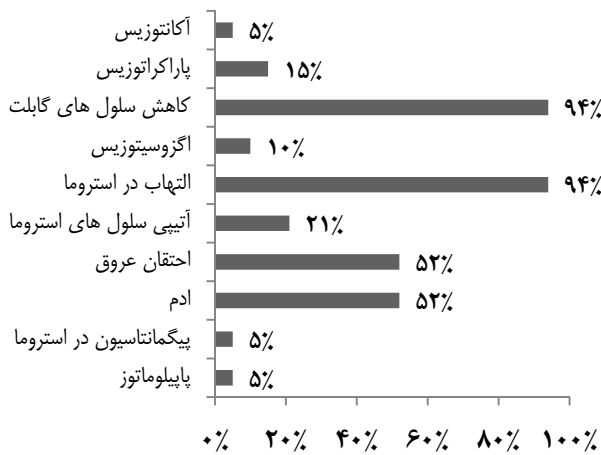
۲- نمونه دوم در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز شد و پس از مقطع‌گیری به وسیله دستگاه کرایوستات، روی لام آغشته به پلی-ال-لازین قرار گرفت و با آنتی‌بادی‌های فلورسانس، IgM, IgG, IgA, Ig total, C4, C3, C1q و فیبرینوژن رنگ‌آمیزی شد. نمونه‌ها با میکروسکوپ فلورسانس (Zeiss Axioscop؛ آلمان) بررسی شدند و یافته‌ها ثبت شد.

۳- نمونه سوم پس از فیکساسیون در محل گلو تار آلدئید ۲٪ پروسس شده و پس از تهیه بلوک رزینی با اولترامیکروتوم در سطوح مختلف با ضخامت ۶۰ نانومتر مقطع‌گیری شد. سپس نمونه‌ها با اورانیل-استات، رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ الکترونی (Zeiss EM900؛ آلمان) بررسی شدند.

از آنجایی که بررسی با میکروسکوپ الکترونی روی قرنیه برای اولین بار در ایران انجام می‌شد و به طور منطقی انتظار تغییرات دژنراتیو در DMGK وجود داشت، برای به حداقل رساندن تغییرات ناشی از

آسیب ناشی از مواد شیمیایی به کار گرفته شده در عملیات نظامی برای اولین بار در جنگ جهانی اول در سال‌های ۱۹۱۴ تا ۱۹۱۸ میلادی با گاز کلرین گزارش شد و از آن پس مواد شیمیایی متعددی در بسیاری از جنگ‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. جدیدترین مورد استفاده از مواد شیمیایی در جنگ عراق علیه ایران بود که این مواد در مقیاس وسیعی به کار گرفته شد. با توجه به آمار به دست آمده در جنگ ایران-عراق حدود ۱۰۰ هزار نفر به دلیل عوارض حاد این مواد، مورد درمان قرار گرفته‌اند و از آن پس تاکنون (طی ۱۹ سال) حدود ۳۴ هزار ایرانی، هنوز از عوارض تاخیری آن رنج می‌برند [۱]. از جمله این مواد می‌توان گاز خردل را نام برد که در دسته گازهای مرگ‌آور قرار دارد و جزء عوامل تاول‌زا محسوب می‌شود. این گاز به راحتی از طریق تنفس یا تماس با چشم، پوست و غشاهای مخاطی جذب می‌شود و با مکانیزم‌های متفاوتی به بافت‌های بدن انسان آسیب می‌رساند. حساس‌ترین عضو بدن انسان نسبت به اثرات گاز خردل، چشم است. شدت ضایعات چشمی که به وسیله فرم بخار خردل ایجاد می‌شود، بستگی به غلظت گاز و مدت زمان تماس دارد. مواجهه با گاز خردل در عرض چند ساعت موجب درد شدید، ریزش اشک، فتوفوبی و بلفارواسپاسم شده و در غلظت‌های بالا یا در مواجهه با فرم مایع سولفورموستارد، موجب ادم قرنیه، زخم قرنیه، سوراخ‌شدگی آن و حتی کوری می‌شود [۲]. زخم قرنیه راجعه یا پایدار ممکن است ۸ تا ۲۵ سال بعد از مواجهه با گاز خردل ایجاد شود. این کراتوپاتی تاخیری ممکن است با کونژنکتیویت مزمن یا کدورت قرنیه نیز همراه باشد. اگرچه اثرات حاد گاز خردل به خوبی شناخته شده است، اما مطالعات انجام شده روی اثرات طولانی مدت این گاز (بعد از یک یا چند مواجهه) بسیار محدود است و تغییرات هیستوپاتولوژیک قرنیه و ملتحمه در کراتوپاتی یا کراتوکونژنکتیویت تاخیری ناشی از گاز خردل، به خصوص در سطح بررسی با میکروسکوپ فلورسانس و الکترونی تاکنون توضیح داده نشده است.

به طور طبیعی سطح چشم از دو نوع اپیتلیوم قرنیه‌ای و ملتحمه‌ای پوشیده شده است که هر دو سنگ‌فرشی و غیرکراتینیزه هستند و روند بازسازی و ترمیم اپیتلیوم سطحی قرنیه توسط سلول‌های بنیادین قرار گرفته در ناحیه لیمبوس (اپیتلیوم اتصال‌دهنده قرنیه و ملتحمه) صورت می‌گیرد. تظاهرات عمده نقص لیمبوس یا به اصطلاح اختلال عملکرد سلول‌های بنیادین لیمبوس شامل اورزیون‌های مکرر قرنیه، التهاب مزمن در استروما همراه با ایجاد اسکار، واسکولاریزاسیون قرنیه و پیش‌روی اپیتلیوم ملتحمه روی قرنیه (کونژنکتیویلیزاسیون) است [۳]. در فرم‌های شدید بیماری‌های قرنیه، از دست رفتن تمامی سلول‌های بنیادین لیمبوس مشاهده می‌شود. این ضایعه می‌تواند به علل مختلف از جمله صدمه شیمیایی یا حرارتی، سندروم استیون‌جانسون، کرایوترابی و نیز اثرات تاخیری گاز خردل ایجاد شود. در حال حاضر، پیوند اتوگرافت لیمبوس (ALT)، تکنیک ثابت‌شده‌ای

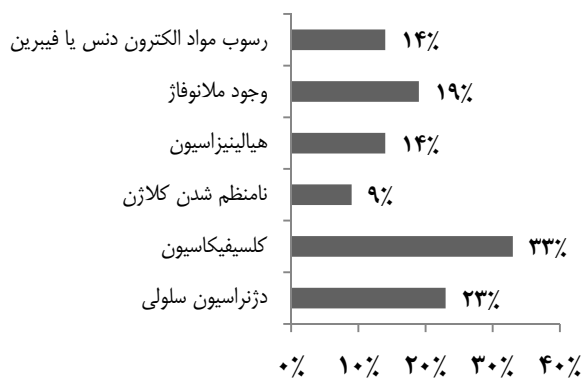


نمودار ۳) تغییرات آسیب‌شناختی ملتحمه (میکروسکوپ نوری)

برای مطالعه با میکروسکوپ نوری تعداد ۴ نمونه بلوک پارافینی به علت عدم کفایت یا نامناسب یا ناپجا بودن از مطالعه حذف شدند. بعضی از این نمونه‌ها حاوی تون بودند و بنابراین برای این مطالعه ارزشمند نبودند. تعداد ۸ نمونه بلوک رزینی نیز به علت نامناسب بودن نمونه از مطالعه خارج شدند.

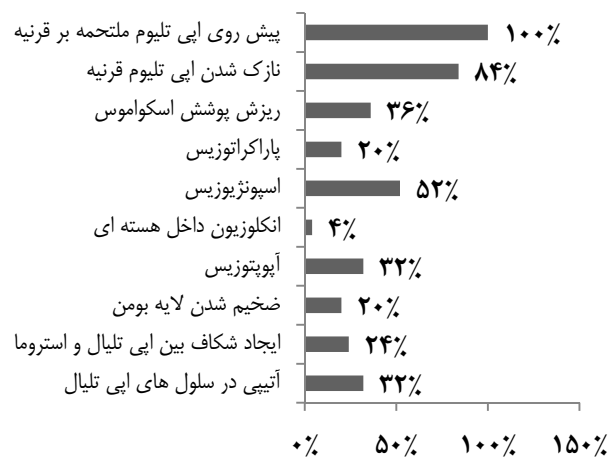
از ۲۵ نمونه باقیمانده قرنیه برای مطالعه با میکروسکوپ نوری، کلا تعداد ۱۶ نمونه از چشم راست و ۹ نمونه از چشم چپ گرفته شده بود. از این تعداد نمونه، ۱۹ مورد از نمونه‌ها حاوی ملتحمه بود.

بیماران عمدتاً شکایات و علائم مشترکی نشان می‌دادند. شکایات عمده شامل فتوفوبی، احساس جسم خارجی و کاهش دید و علائم این بیماران شامل بلفاریت، نقص اپیتلیوم قرنیه، اوپاسیتی قرنیه، واسکولاریزاسیون قرنیه، ایسکمی ملتحمه، نازکی ملتحمه و کاهش آزمون شیرمر بود. یافته‌های بررسی با میکروسکوپ نوری در نمودارهای ۱ و ۲ و ۳ آمده است. نتایج بررسی ایمونوفلورسانس مستقیم در تمام نمونه‌ها منفی یا غیراختصاصی بود و در هیچ یک از نمونه‌ها، رسوب قابل توجه آنتی‌بادی در بین سلول‌های اپی‌تلیال، بر غشای پایه، اطراف عروق یا در نواحی دیگر دیده نشد. یافته‌های بررسی با میکروسکوپ الکترونی در نمودارهای ۴ و ۵ آمده است.



نمودار ۴) تغییرات آسیب‌شناختی در استرومای قرنیه (میکروسکوپ الکترونی)

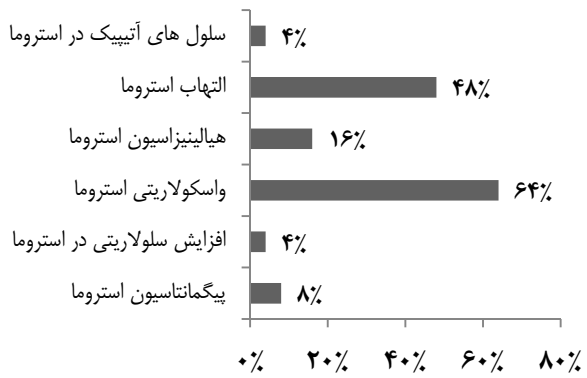
فیکساسیون دیررس، ظرف‌های نمونه حاوی سالین، فرمالین ۱۰٪ و گلوترالدئید به اتاق عمل تحویل داده شد و جراح، نمونه‌ها را شخصاً در ظروف مناسب قرار داده و سپس نمونه‌ها به بخش پاتولوژی ارسال می‌شدند. از آنجایی که اندازه نمونه‌های قرنیه بسیار کوچک هستند و جراح حداقل ممکن بافت قرنیه را برمی‌داشت و آن را تقسیم می‌کرد، گاه نمونه‌برداری از نواحی مختلف لیمبوس و قرنیه صورت می‌گرفت. بنابراین در بعضی موارد، نمونه‌های آماده‌شده برای بررسی با میکروسکوپ‌های نوری، فلورسانس و الکترونی دقیقاً از یک محل نبودند و گاه نمونه ارسالی در یکی از ظرف‌های حاوی بافت مورد نظر وجود نداشت.



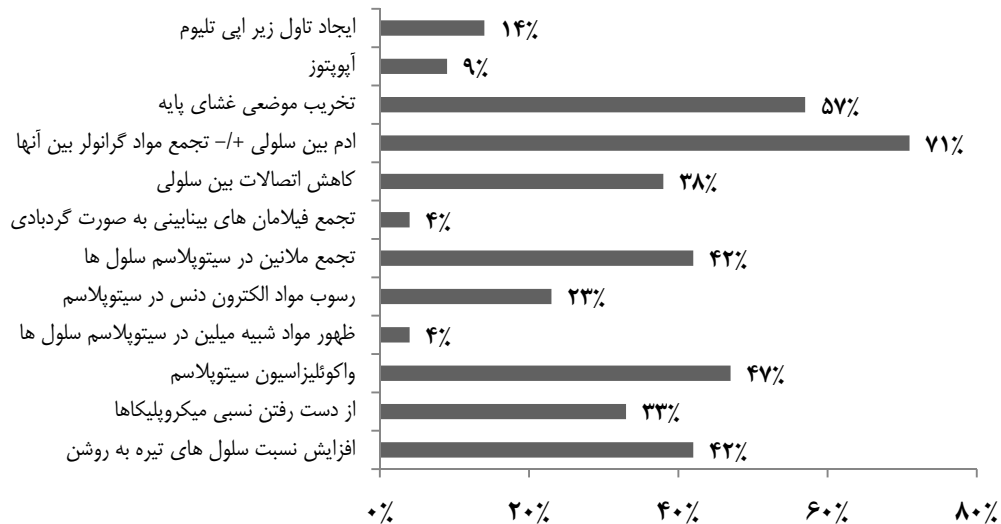
نمودار ۱) تغییرات آسیب‌شناختی اپیتلیوم قرنیه (میکروسکوپ نوری)

## نتایج

۲۱ نفر از مصدومان، مرد و یک نفر زن بودند. جوان‌ترین فرد ۱۶ سال و مسن‌ترین آنها ۴۸ سال داشت و میانگین سنی ۳۵ سال بود. مدت درگیری این مصدومان از زمان مواجهه با گاز خردل بین ۱۴ تا ۱۶ سال و میانگین طول مدت درگیری آنها ۱۴/۷ سال بود. بیماران در این مدت تحت درمان‌های موضعی از قبیل اشک مصنوعی و پماد بتامتازون قرار داشتند.



نمودار ۲) تغییرات آسیب‌شناختی استرومای قرنیه (میکروسکوپ نوری)



نمودار ۵) تغییرات آسیب‌شناختی در اپی‌تلیوم قرنیه (میکروسکوپ الکترونی)

## بحث

کراتوپاتی تاخیری گاز خردل بدترین وضعیتی است که در چشم بر اثر آسیب با گاز خردل ایجاد می‌شود و تاکنون ۲۵۰ مورد آن گزارش شده است. در این بیماری، عود علایم و ایجاد زخم مقاوم در قرنیه پس از یک فاز نهفته طولانی که به‌طور متوسط ۱۰ تا ۱۵ سال طول می‌کشد، دیده می‌شود. از مشخصات این بیماری رشد قابل توجه اپیتلیوم ملتحمه بر سطح قرنیه است. این وضعیت پاتولوژیک با نشان دادن سلول‌های گابلت ملتحمه در سطح قرنیه تایید می‌شود [۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰]. صفایی و همکاران در مطالعه‌ای روی نمونه‌های سیتولوژی تهیه‌شده از قرنیه ۲۲ نفر از مصدومان جنگ شیمیایی مبتلا به DMGK، تغییراتی چون متاپلازی سنگ‌فرشی، متاپلازی گابلت‌سل و دیسپلازی را در سلول‌های قرنیه گزارش کردند [۱۱]. وجود کونژانکتیویلیزاسیون پایدار و بازسازی مجدد اپیتلیوم قرنیه و بهبود علایم بالینی بیماران مبتلا به این نوع کراتوپاتی، تنها در صورت جاگزینی سلول‌های بنیادین ناحیه لیمبوس، گواهِ محکمی بر این مدعاست که DMGK بر اثر نقص عملکرد شدید یا ازدست‌رفتن کامل سلول‌های بنیادین ناحیه لیمبوس ایجاد می‌شود. پلیر و همکاران [۴] در مطالعه‌ای روی تنها یک مورد کراتوپاتی تاخیری ناشی از گاز خردل، حضور سلول‌های بازال و اپیتلیالی غیرطبیعی قرنیه و کراتینوسیت‌های دوکی‌شکل را در استرومای قدامی قرنیه در مجاورت لایه بومن گزارش کردند که به یک شبکه سه‌بعدی از فیبریل‌های درهم‌بافته‌شده متصل بودند. آنها در انتها، ایمنی پروتئین‌های تغییر یافته و پروسه‌های دژنراتیو را به‌عنوان علل احتمالی اثرات تاخیری گاز خردل مطرح نمودند.

یکی از سؤالات مطرح در مطالعه حاضر این بود که آیا یافته‌های هیستوپاتولوژیک و میکروسکوپی بافت قرنیه در کراتوپاتی تاخیری گاز خردل اختصاصی است؟ در بررسی نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری، تمام

یافته‌ها منطبق بر کراتوپاتی ناشی از نقص سلول‌های بنیادین لیمبوس است. در این بیماری از آن‌جایی که سلول‌های بنیادین لیمبوس کاملاً از بین رفته‌اند، در واقع سد پیش‌روی اپیتلیوم بر قرنیه از بین می‌رود و نتیجه آن رشد مداوم و پایدار اپیتلیوم ملتحمه بر سطح قرنیه است. در نمونه‌های بررسی‌شده در مطالعه حاضر، در ۱۰۰٪ نمونه‌های قرنیه سلول گابلت دیده شد (کونژانکتیویلیزاسیون) و باقی یافته‌ها همگی مطابق بر زخم پایدار در قرنیه بودند. تنها شاید بتوان دیدن آنتی‌بی واضح در هسته بعضی سلول‌های اپیتلیوم و کراتوسیت‌های استرومای قرنیه به‌صورت ایزوله در نمونه‌هایی که التهاب حاد نداشتند را به تاثیرات اختصاصی گاز خردل بر اپیتلیوم قرنیه نسبت داد. این تغییرات کاملاً مشابه تغییراتی بودند که به‌دنبال رادیوتراپی و کموتراپی در سلول‌های اپی‌تلیالی و غیراپی‌تلیالی در بافت‌های مختلف دیده می‌شوند. در همین جا لازم به ذکر است که در هیچ‌کدام از نمونه‌ها تغییرات کلاسیک دیسپلازی یا بدخیمی دیده نشد و آنتی‌بی گزارش شده در اپیتلیوم و استروما در سلول‌ها به‌صورت ایزوله و تک‌گیر دیده شده است.

سؤال دیگر در این مطالعه این بود که آیا با بررسی میکروسکوپی نمونه‌های مبتلا به کراتوپاتی تاخیری گاز خردل در سطوح مختلف می‌توان به مکانیزم این بیماری پی برد؟ یکی از فرضیه‌های ایجاد کراتوپاتی تاخیری گاز خردل، نقص سلول‌های بنیادین با مکانیزم ایمنی سلولی بود. در بررسی با میکروسکوپ نوری در نمونه‌های قرنیه در تنها ۴۸٪ موارد، سلول‌های التهابی در استرومای قرنیه دیده شدند و انفیلتراسیون التهابی در تمام این موارد، مخلوطی از سلول‌های التهابی حاد و مزمن بود، در حالی که می‌دانیم در ضایعات ایجادشده با مکانیزم ایمنی سلولی، لنفوسیت‌های T فعال‌شده، همراه با ماکروفاژها بر علیه آنتی‌ژن‌های خالص وارد عمل می‌شوند و روند تخریب سلولی را برعهده دارند. بنابراین براساس یافته‌های این مطالعه، مکانیزم ایمنی

قرنیه و سلول‌های بنیادین لیمبوس که نیمه‌عمر بیشتر، چرخه سلولی طولانی‌تر، دوره فاز S کوتاه‌تر و نیز بالاترین توانایی مستقیم و تمایز در قرنیه را دارند، بیشتر و شدیدتر از سلول‌های دیگر پوشش قرنیه و ملتحمه باشد. از آنجایی که در این مطالعه براساس تمامی یافته‌ها امکان دخالت مکانیزم‌های ایمنی سلولی و هومورال در کراتوپاتی تاخیری ناشی از گاز سولفور خردل کنار گذاشته می‌شود، به‌نظر می‌رسد که گاز خردل با مکانیزم اولیه آلکیلاسیون موجب تخریب تدریجی و نقص عملکرد سلول‌های تکثیری گذرا در لایه پازال قرنیه و سلول‌های بنیادین لیمبوس و ایجاد DMGK می‌شود.

### نتیجه‌گیری

هیچ یافته اختصاصی و تشخیصی در بررسی هیستوپاتولوژیک یا میکروسکوپی برای آثار سوء تاخیری گاز خردل در چشم وجود ندارد. براساس مشاهدات ما ایمنی سلولی یا هومورال نمی‌تواند تمامی آثار تخریبی ناشی از گاز خردل را توجیه کند. به‌نظر می‌رسد اثر آلکیلاسیون اولیه گاز خردل بر سلول، اساس آسیب‌زایی تاخیری آن باشد.

### منابع

- 1- Khateri SH. Statistical views on late complications of chemical weapons on Iranian civil war victims. Tehran: Janbazan Publication. 2001;85:1-4. [Persian]
- 2- Slidell FR, Hurst CHG. Long-term health effects of never agent and mustard: Medical aspects of chemical and biological warfare. USA: Army Medical Research Institute of Chemical Defense Press; 1997.
- 3- Vinay K, Abbas AK, Fausto N. Pathologic basis of disease. 7<sup>th</sup> ed. USA: Elsevier Saunders; 2000.
- 4- Elyasi H. Body injuries by sulfur mustard war agent. Tehran: Jihad Publication; 1993. [Persian]
- 5- Rasuli S, Jadidi K. Clinical evaluation of patients with DMGK after limbal allograft transplantation. Tehran: Medical University Press; 2000. [Persian]
- 6- Jacques J. First victims of pyrite. New J Chem. 1991;15:3-4.
- 7- Pleyer U, Sherif Z, Baatz H, Hartmann CH. Delayed mustard gas chromatography: Clinical finding and confocal microscopy. Entomol Sci. 1999;128(4):506-7.
- 8- Gilbert S, Richard A. The cornea: Scientific foundations and clinical practice. 3<sup>rd</sup> ed. USA: Brown Company; 1994.
- 9- Puangsricharern V, Scheffer CG. Tseng cytologic evidence of corneal disease with limbal stem cell deficiency. Ophthalmology. 1995;102:1476-85.
- 10- Dua HS, Saini JS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cell deficiency: Concept, aetiology, clinical presentation, diagnosis and management. Indian J Ophthalmol. 2000;48(2):83-92.
- 11- Safai A, Salati R, Kumar PV. Conjunctival dysplasia in soldiers exposed to mustard gas during the Iraq-Iran war. Acta Cytologica. 2001;45(6):909-13.

سلولی برای تخریب سلول‌های بنیادین در کراتوپاتی تاخیری ناشی از گاز خردل مطرح نیست.

سؤال بعدی این مطالعه، امکان دخالت ایمنی هومورال در تخریب سلول‌های بنیادین در بیماری کراتوپاتی تاخیری ناشی از گاز خردل بود؟ در این مطالعه با توجه به منفی‌بودن تمام نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با آنتی‌بادی‌های مختلف در بررسی با میکروسکوپ فلورسانس، آنتی‌بادی اختصاصی بر علیه هیچ کدام از اجزای بافت قرنیه و ملتحمه دیده نشد و بنابراین مکانیزم هومورال در تخریب سلول‌های بنیادین نمی‌تواند مطرح باشد.

در بررسی با میکروسکوپ الکترونی که شاید مشکل‌ترین قسمت این مطالعه بود، شایع‌ترین یافته‌ها گواه بر صدمه سلولی بودند و این ضایعات شامل صدمات برگشت پذیر و نیز صدمات برگشت‌ناپذیر سلولی بودند. تورم سلولی، از دست رفتن نسبی یا کوتاه و پهن شدن میکروپلیکاهای سطحی سلول‌ها، واکوتلیزاسیون سیتوپلاسم، کاهش اتصالات بین سلولی و ظهور مواد شبیه میلین در سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیال، نشانه‌هایی از صدمات برگشت‌پذیر به سلول بودند. اما افزایش تعداد سلول‌های تیره و حضور آنها در تمام لایه‌های اپی‌تلیوم قرنیه، نشانه پیرشدن سلول‌ها و عدم توانایی بافت قرنیه برای بازسازی مناسب پوشش اپی‌تلیوم بود. تجمع غیرطبیعی فیلامان بینابینی کراتین در سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیال و به‌خصوص سلول‌های لایه بازال اپی‌تلیوم قرنیه چشمگیر بود و قرار گرفتن دسته‌ای این فیلامان‌ها در سیتوپلاسم سلول‌های اپی‌تلیال در نواحی عاری از قابلیت سل می‌تواند نشانه کوئژانکتیویلیزاسیون باشد. بنابراین یافته‌های بررسی با میکروسکوپ الکترونی نیز گواه بر این مدعا هستند که DMGK، ناشی از نقص کامل سلول‌های تکثیری گذرا و سلول‌های بنیادین لیمبوس است.

به‌نظر می‌رسد که گاز خردل به‌واسطه نوکلئوفیلیک بودن و اثر دیررس آلکیله‌کننده خود با تاثیر مستقیم بر DNA و پروتئین‌های هسته‌ای سلول‌های بنیادین لیمبوس و سلول‌های تکثیری گذرا در لایه پازال قرنیه، موجب آسیب جدی به این سلول‌ها می‌شود و با تاثیر بر ساختمان و عملکرد پروتئین‌ها و آنزیم‌های سلول، موجب کاهش طول عمر و تخریب این سلول‌ها و در نتیجه کاهش تعداد آنها می‌شود. در مطالعات مشاهده شده است که اثر گاز خردل در بافت‌های تومورال بسیار بیشتر از بافت‌های دیگر است و همان‌طور که قبلاً ذکر شد ترکیبات گاز خردل رادیومیمتیک هستند. بنابراین انتظار می‌رود که اثرات گاز خردل نیز مانند تشعشعات بر سلول‌هایی که توانایی تقسیم و تمایز بیشتری دارند، بیشتر و شدیدتر باشد و منطقی به‌نظر می‌رسد که اثرات تخریبی گاز خردل بر سلول‌های تکثیری گذرا در لایه‌های بازال