Downloaded from tkj.ssu.ac.ir at 12:20 IRST on Tuesday September 26th 2017

فصلنامه علمی تخصصی طب کار
دوره ششم/ شماره دوم/ تابستان ۹۳/ صفحات ۲۰-۱۳

ساخت نمونه بردار کندانس هوای بازدمی جهت مطالعه بیومارکرهای بازدمی استرس اکسیداتیو

علی فیروزی چاهک[۱]، محمدجواد زارع سخویدی[۲*]، امیرهوشنگ مهرپرور[۳]، مهرداد مستغاثی[۳]، جواد بیابانی اردکانی[٤]، حمیده نیک‌نظر[۱]، پریسا آزاد[۱]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت حرفه‌ای، گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۲. عضو هیأت علمی گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
۳. متخصص طب کار و عضو هیأت علمی گروه طب کار و مرکز تحقیقات بیماریهای ناشی از صنعت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد
٤. مدیر آزمایشگاه مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

تاریخ دریافت: ۹۲/۰٦/۰۲ تاریخ پذیرش:۹۲/۰۷/۱۱

چکیده

مقدمه: استفاده از بیومارکرهای هوای بازدمی طی سال‌های اخیر برای بررسی مواجهه و بیماری در سم‌شناسی شغلی و پزشکی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش، سیستمی ساده جهت جمع‌آوری کاندنس هوای بازدمی تهیه شده و نمونه‌گیری و آنالیز مقدار مالون دی آلدهید با آن مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: طرح اولیه نمونه‌بردار بر اساس سیستم مبتنی بر چگالش با استفاده از آب انتخاب گردید. تاثیر طول نمونه‌بردار، زمان و دما در جمع‌آوری کندانس مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها از دو گروه سیگاری و غیرسیگاری برای تعیین مقدار مالون دی آلدهید با استفاده از کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در این مطالعه برای ساخت دستگاه نمونه‌برداری از هوای بازدمی از بین مبردهای با طول ۱۵، ۲۵ و ٤۰ سانتی‌متر و دمای صفر و ۵ درجه سانتی‌گراد، مبرد با طول ۲۵ سانتی‌متر و دمای صفر درجه به دلیل بازدهی بالاتر به منظور جمع‌آوری کاندنس هوای بازدمی انتخاب گردید. در این مطالعه میزان مالون دی آلدهید هوای بازدمی افراد سیگاری به طور معناداری بالاتر از افراد سالم بود($P<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه، ساخت ابزار نمونه‌برداری هوای بازدمی با یک تکنولوژی نه چندان پیچیده با کارایی مناسب می‌باشد. این مطالعه همچنین افزایش مقدار مالون دی آلدهید را به عنوان معیار پراکسیداسیون لپیدی در افراد سیگاری نشان می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: پراکسیداسیون لپیدی، نمونه‌برداری از هوای بازدمی، مالون دی آلدهید، بیومارکر

* نویسنده مسئول: آدرس پستی: گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، تلفن: ۰۳۵۱-٦۲٤۰٦۹۱
پست الکترونیکی: mjzs63@gmail.com

Downloaded from tkj.ssu.ac.ir at 12:20 IRST on Tuesday September 26th 2017

مقدمه

استفاده از بیومارکرها همواره به عنوان ابزاری در غربالگری و پایش زود هنگام بیماری‌ها و به ویژه مواجهه‌های شغلی و محیطی مورد توجه بوده است. در این میان همواره توجه محققان بر روی به کارگیری بیومارکرهایی بوده تا علاوه بر آن که به خوبی بتوانند گویای وضعیت فیزیولوژیک فرد باشند، غیرتهاجمی بوده و مورد مقبولیت بیمار نیز باشد. یکی از روش‌هایی که طی سال‌های اخیر برای بررسی بیومارکرهای مواجهه و بیماری در سم‌شناسی شغلی و پزشکی بسیار مورد توجه قرار گرفته است، آنالیز هوای بازدمی می‌باشد(۱). به طور کلی هوای بازدمی انسان مشتمل بر بیش از ۲۰۰ نوع ترکیب مختلف می‌باشد که بسته به وضعیت سلامتی و همچنین شرایط لحظه‌ای فرد از قبیل گرسنگی، انجام فعالیت ورزشی و ... تغییراتی در کیفیت و کمیت آنها ایجاد می‌شود. وجود تعدادی از ترکیبات در هوای بازدمی انسان می‌تواند بیانگر شرایط درونی و فیزیولوژیکی فرد بوده و اطلاعات ارزشمندی را در مورد سلامت فرد ارائه دهد(۲). استفاده از هوای بازدمی تاکنون به عنوان ابزاری در تشخیص پاره‌ای از بیماری‌ها از قبیل دیابت، عفونت‌های دستگاه گوارشی و مشکلات کلیوی مورد استفاده قرار گرفته است. امروزه با ابداع روش‌های بسیار حساس و دقیق استخراج و جداسازی ترکیبات و همچنین وجود دستگاه‌های پیشرفته آزمایشگاهی، این تکنیک برای مطالعه بیومارکرها اهمیت زیادی یافته است(۳). یک دسته از بیومارکرهای بسیار مهم در حیطه سم‌شناسی و طب کار، بیومارکر های استرس اکسیداتیو می باشند. عوامل زیان‌آور و مواجهات متعددی در محیط‌های شغلی وجود دارند که قادرند با ایجاد استرس اکسیداتیو عوارضی را در بدن ایجاد نمایند. استرس اکسیداتیو در نتیجه عدم تعادل بین تولید رادیکال آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از یک سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر ایجاد می‌گردد. به عبارت دیگر در سیستم‌های بیولوژیک هوازی به منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن، مکانیسم‌های دفاع آنتی اکسیدانی طراحی شده است تا اثرات زیان بار این عوامل مهاجم را خنثی کرده و یا به حداقل برساند(۳). مطالعات نشان داده است که پس از مواجهه با پاره‌ای از آلاینده‌های هوا، مارکرهای استرس اکسیداتیو در ماتریس‌هایی مانند خون و بازدم افزایش پیدا می کند(٤،٥). هرچند اغلب این مطالعات در مورد تاثیر آلودگی هوا بر جمعیت‌های غیرشغلی بوده است. وجود مارکرهای مختلف استرس اکسیداتیو از قبیل محصولات پر اکسیداسیون لیپیدی در هوای بازدمی در سال‌های اخیر مورد بررسی قرار گرفته است. برای اندازه‌گیری میزان پر اکسیداسیون لپیدها روش‌های متعددی طراحی شده است. در بعضی از این روش‌ها با اندازه‌گیری محصولات حاصل از پر اکسیداسیون لپیدها وضعیت پر اکسیداسیون لپیدی سنجیده می‌شود. یکی از مهم‌ترین محصولات حاصل از پراکسیداسیون لپیدها، مالون دی آلدهید می‌باشد که بسیار مورد توجه بوده و به طور وسیعی مورد سنجش قرار می‌گیرد(٦). مطالعات متعددی تاکنون به بررسی میزان مالون دی آلدهید در هوای بازدمی افراد با بیماری‌های مختلف پرداخته‌اند (۱۰-۷، ٤).

یکی از مراحل اصلی در به کارگیری هوای بازدمی جهت تعیین بیومارکرها، نمونه‌برداری و جمع‌آوری صحیح آن می‌باشد. تاکنون روش‌های متعددی جهت نمونه‌برداری و تغلیظ این ماتریس صورت پذیرفته است(۱۳-۱۱). در این مطالعه کارایی یک سیستم مبتنی بر چگالش هوای بازدمی و نمونه‌برداری از کندانس ایجاد شده (Exhaled breath condensate) در تعیین مقدار مالون دی آلدهید هوای بازدمی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

طرح اولیه نمونه‌بردار پس از مطالعه سایر طرح‌های موجود، بر اساس سیستم مبتنی بر چگالش با استفاده از آب انتخاب گردید(۱٤،۱۵). بر این اساس سیستم مذکور

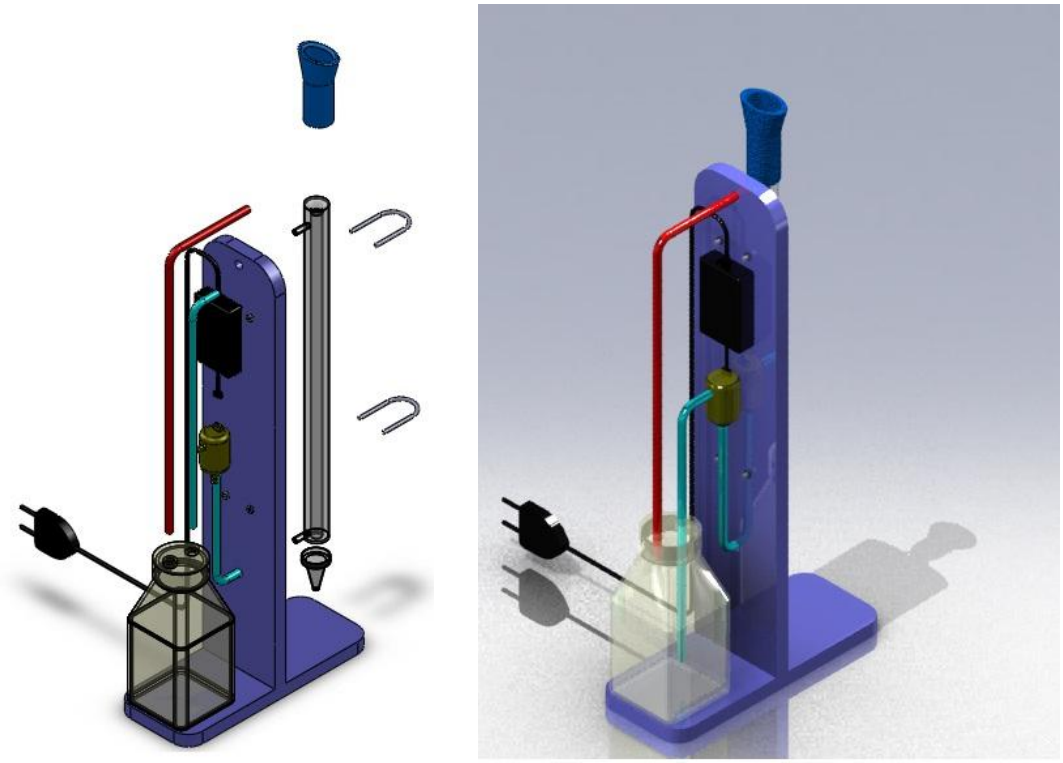
Downloaded from tkj.ssu.ac.ir at 12:20 IRST on Tuesday September 26th 2017

متشکل از کندانسور غیرتماسی، پمپ جریان آب، دماسنج، محل جمع‌آوری نمونه، و منبع تغذیه الکتریسته بود. به منظور دمیدن درون دستگاه از یک لوله قابل انعطاف متصل به لوله شیشه‌ای و دهنی استفاده شد.

شکل ۱ نمای باز شده این سیستم را نشان داده است. هوای بازدمی با عبور از بخش داخلی کندانسور شیشه‌ای که با جریان آب خنک گردیده است، به حالت فوق اشباع رسیده و رطوبت خود را بر روی دیواره کندانسور از دست می‌دهد.

قطرات ایجاد شده در سطح داخلی کندانسور به پایین ظرف هدایت شده و در یک میکروتیوب نگهداری می‌گردند. با توجه به حجم نمونه مورد نیاز برای آنالیز مالون دی آلدهید طبق روش انتخابی در این پژوهش، به این دلیل که در این طول و دما بیشترین بازدهی را دریافت نمودیم، مبرد با طول ۲۵ سانتی متر و دمای صفر درجه به منظور جمع‌آوری کندانس هوای بازدمی انتخاب گردید. به منظور کنترل دما از دماسنج جیوه‌ای استفاده گردید، به نحوی که هنگامی که دمای مخلوط آب و یخ به صفر درجه می‌رسید پمپ را روشن نموده و نمونه‌برداری آغاز می‌شد.

به منظور بررسی کارایی دستگاه ساخته شده از ۵ فرد سالم و ۵ فرد سیگاری به منظور مقایسه میزان مالون دی آلدهید هوای بازدمی استفاده شد. در ضمن این افراد از لحاظ BMI، سابقه کاری و سن همانندسازی شده بود و تنها تفاوت در مصرف سیگار این افراد بوده است درضمن تمامی افراد مورد مطالعه مرد بوده‌اند. مالون دی آلدهید بر اساس شرایط ذکر شده در قسمت مواد و روش‌ها، در دقیقه ۱و ٤ استخراج گردید(شکل۲).



شکل ۱- نمایی از دستگاه نمونه‌برداری هوای بازدمی

نمونه‌برداری: نمونه‌برداری از ۱۰ نفر جهت بررسی مالون دی آلدهید هوای بازدمی انجام گردید. ابتدا از افراد خواسته شد با کمک گیره‌ای بینی خود را بگیرند و سپس با یک فرکانس ثابت به مدت ٤ دقیقه درون دهنی که برای هر فرد به صورت جداگانه تعبیه شده بود بدمند. هوای بازدمی پس از مواجهه با دمای صفر درجه به صورت مایع و کندانس شده در انتهای دستگاه درون میکروتیوب جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری

Downloaded from tkj.ssu.ac.ir at 12:20 IRST on Tuesday September 26th 2017

در ظرف آب یخ نگه‌داری شد و بلافاصله پس از انتقال به آزمایشگاه در یخچال با دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند.

تجزیه و تعیین مقدار MDA: جهت آماده‌سازی و تجزیه نمونه‌ها، تیوباربیتیک اسید (TBA) از شرکت سیگما و نمک مالون دی آلدهید تترا بوتیل آمونیوم (TBA-MDA) با درجه خلوص بالای ۹۶٪ از شرکت سیگما و اتانول ساخت مرک آلمان خریداری گردید. آماده‌سازی با استفاده از مشتق‌گیری و بر اساس شیوه ارائه شده توسط Larstad و همکارانش صورت گرفت(۱۰).

تجزیه نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا مجهز به دتکتور فلورسانس همراه با ستون C18 صورت پذیرفت. به منظور تجزیه نمونه‌ها ۵۰ میکرولیتر از TBA-MDA به دستگاه HPLC تزریق گردید. فسفات بافر۲۰ میلی‌مولار با pH، ۶/۸ به همراه استونیتریل با نسبت (۸۰/۲۰) به عنوان فاز متحرک مورد استفاده قرار گرفت. دتکتور فلورسانس در طول موج تهییج ۵۳۲ و نشر ۵۵۳ تنظیم گردید. مقدار gain در دستگاه برابر با ۱۰۰ در نظر گرفته شد. بررسی پیک‌ها توسط توسط نرم‌افزار Empower pro صورت گرفت.

آنالیزهای آماری: نتایج بررسی مالون دی آلدهید در هوای بازدمی دو گروه سیگاری و غیرسیگاری با استفاده از آزمون T مستقل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

برای تعیین پارامترهای بهینه نمونه‌برداری هوای بازدمی ۳ نوع مبرد با اندازه‌های ۱۵، ۲۵ و۴۰ سانتی‌متری انتخاب و در دو دمای ۵ و صفر درجه سانتی‌گراد از هوای بازدمی نمونه‌برداری گردید(جداول ۱و۲). زمان تشکیل اولین قطره در مبرد با طول کوتاه‌تر، کم‌تر می‌باشد؛ اما حجم نهایی جمع‌آوری کندانس در مبرد با طول بزرگ‌تر، بیشتر می‌باشد. در دمای صفر درجه حجم نهایی بازدمی جمع‌آوری شده نسبت به دمای ۵ درجه بیشتر می‌باشد و همچنین زمان تشکیل اولین قطره نیز کوتاه‌تر می‌گردد(نمودار ۱).

جدول ۱- کندانس جمع‌آوری شده از هوای بازدمی در دمای صفر درجه سانتی‌گراد

طول مبرد (سانتی‌متر)	زمان تشکیل اولین قطره (ثانیه)	حجم کندانس جمع‌آوری شده پس از ۵ دقیقه (میکرولیتر)
۱۵	۱۲۳	۹۰
۲۵	۱۵۷	۲۱۰
۴۰	۲۴۲	۵۴۰

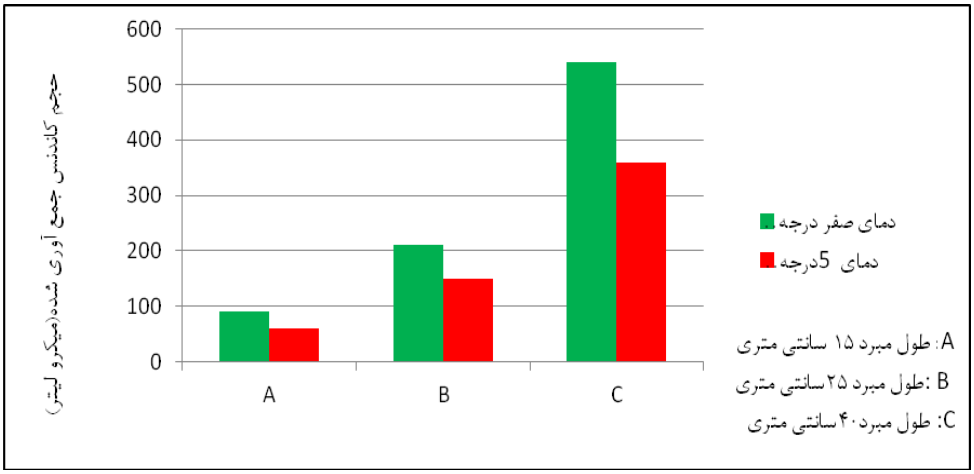
جدول ۲- کندانس جمع‌آوری شده از هوای بازدمی در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد

طول مبرد (سانتی‌متر)	زمان تشکیل اولین قطره (ثانیه)	حجم کندانس جمع‌آوری شده پس از ۵ دقیقه (میکرو لیتر)
۱۵	۱۷۰	۶۰
۲۵	۲۲۰	۱۵۰
۴۰	۳۴۹	۳۶۰

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌گردد، میانگین سطح پیک مالون دی آلدهید در افراد سالم برابر با ۷۰۲۳۲۳/۲ و در افراد سیگاری برابر با ۱۳۲۸۱۵۳/۶ می‌باشد.

همانطور که از آزمون بر آورد می‌شود بین افراد سیگاری و سالم از نظر مقدار مالون دی آلدهید تفاوت معناداری وجود دارد (Pvalue<۰/۰۵) و این موضوع در نمودار ۲ نیز به وضوح مشخص می‌باشد.

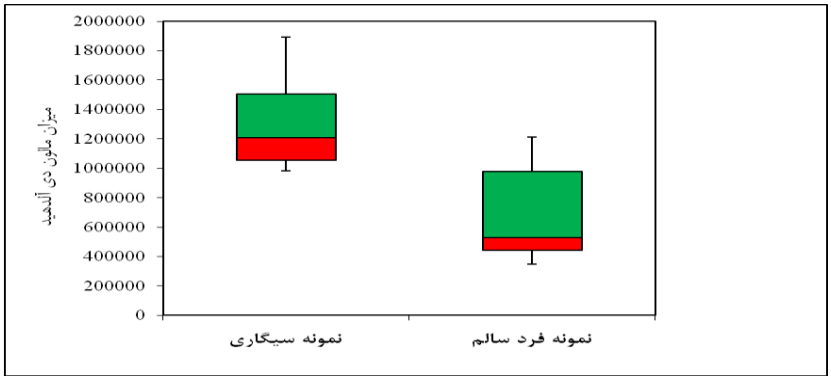
Downloaded from tkj.ssu.ac.ir at 12:20 IRST on Tuesday September 26th 2017



نمودار ۱– مقایسه کندانس جمع‌آوری شده از هوای بازدمی در دمای صفر و ۵ درجه سانتی‌گراد

جدول۳– مقایسه و توزیع میزان مالون دی آلدهید در دو گروه سالم و سیگاری

نمونه	میزان مالون دی آلدهید			t	df	P_{value}
	تعداد	میانگین	انحراف معیار			
سیگاری	۵	۱۳۲۸۱۵۳/٦	۳۷۳۳۳۹/۸۳	۲/٦٤	۸	۰/۰۲۹
سالم	۵	۷۰۲۳۲۳/۲	۳۷۳٦۳٦/٦٦			



نمودار ۲– مقایسه و توزیع میزان مالون دی آلدهید در دو گروه سالم و سیگاری

بحث

در این مطالعه جمع‌آوری EBC به عنوان یک مدیا در ارزیابی بیومارکرها، با استفاده از یک سیستم ساده مورد بررسی قرار گرفت. تعیین مقدار مالون دی آلدهید در نمونه‌های جمع‌آوری شده در دو گروه از افراد سیگاری و غیرسیگاری انجام شد. بر اساس مطالعات تجربی انجام گرفته توسط محقق از آب صفر درجه به عنوان منبع آب سرد و طول مبرد ۲۵ سانتی‌متری به منظور بهره‌وری بالاتر جهت جمع‌آوری کندانس هوای بازدمی استفاده شد. با این روش مدت نمونه‌برداری به ۵ دقیقه کاهش می‌یابد؛ به طوری که در این مدت به میزان ۲۱۰ میکرولیتر کاندس هوای بازدمی جمع‌آوری می‌گردد که نسبت به مطالعه Valenzuela و GÖKHAN راندمان بالاتری دارد. در

Downloaded from tkj.ssu.ac.ir at 12:20 IRST on Tuesday September 26th 2017

مطالعات فوق زمان نمونه‌برداری بین ۱۵-۱۰ دقیقه ذکر شده است که در این مدت به میزان ۱/۵- ۱ میلی‌لیتر کندانس هوای بازدمی جمع‌آوری می‌گردد(۱۴،۱۵). مطالعات مختلف روش‌های متعددی را برای سرد نمودن و در نهایت جمع‌آوری EBC استفاده نموده‌اند؛ اما عموماً برای اهداف پژوهشی که تا کنون مورد بررسی قرار گرفته‌اند، جمع‌آوری با یخ یا آب سرد کفایت می‌کند. هر چند در مطالعه Valenzuela از سیستم سرد و گرم برای جمع‌آوری هوای بازدمی استفاده شده است(۱۴). از مشکلات دستگاه مورد استفاده در این پژوهش می‌توان وارد شدن بزاق به کندانس هوای بازدمی نام برد، در صورتی که این مشکل در مطالعه Valenzuela و همکارانش که به منظور بررسی و ارائه طرحی برای ساخت یک نمونه‌بردار برای EBC پرداختند، حل شده است. آنها با استفاده از یک چگالنده و یک سیستم حذف بزاق توانستند سیستمی را برای این هدف طراحی کنند(۱۴). همچنین Mutla و همکارانش در پژوهشی، به بررسی ویژگی‌های یک سیستم بهینه نمونه‌برداری از EBC پرداخته‌اند. از جمله معایبی که برای روش‌های کنونی نمونه‌برداری EBC در این مطالعه به آنها اشاره شده است، می‌توان به عدم وجود متدولوژی استاندارد برای نمونه‌برداری از این مواد اشاره کرد. آنها در نهایت ابزاری برای این هدف معرفی نموده‌اند(۱۵). به طور خلاصه، دستگاه در مطالعه حاضر مربوط به یک سیستم کم هزینه است که قطعات آن ارزان و یک بار مصرف می‌باشد و این امکان را به وجود می‌آورد تا با استفاده از یک تکنولوژی نه چندان پیچیده به کارایی مورد نظر دست پیدا کرد. نتایج به دست آمده از آنالیز نمونه‌ها در این مطالعه نشان داد که میزان مالون دی آلدهید در کندانس بازدمی گروه مورد بالاتر از گروه شاهد می‌باشد. در مطالعه رنجبر و همکاران، میزان پر اکسیداسیون لپیدی در افراد سیگاری بالاتر از افراد غیرسیگاری بوده است. در مطالعه آنها ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما و گروه‌های تیول پلاسما در افراد سیگاری، پایین‌تر از افراد غیرسیگاری بوده است. با توجه به کاهش گروه‌های تیول و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسما چنین استنباط می‌شود که در افراد سیگاری، تولید رادیکال‌های آزاد افزایش داشته است(۱۹). در مطالعه Block و همکاران نیز میزان پراکسیداسیون لپیدی و f2- ایزو پروستان‌ها در افراد سیگاری در مقایسه با افراد غیرسیگاری، افزایش معنی‌داری داشته است(۲۰). در مطالعه Rouzbahani و همکاران، میزان مالون دی آلدهید در افراد سیگاری بالاتر از افراد غیرسیگاری بوده است(۲۱). همچنین در مطالعه Rostami و همکاران ۶۰ نفر از افراد سیگاری و ۶۰ نفر از افراد غیرسیگاری انتخاب و سطح سرمی نیتریت، نیترات و مالون دی آلدهید آنها تعیین و با هم مقایسه شدند. در این مطالعه سطح سرمی مالون دی آلدهید در گروه سیگاری ۲/۶±۱۱/۷ و در گروه غیرسیگاری ۱/۹±۸/۳ میکرو مول در لیتر بود که به طور معناداری در گروه افراد سیگاری بالاتر از گروه افراد غیرسیگاری بود(۲۲). در کل، نتایج این مطالعه با نتایج سایر مطالعات همخوانی دارد(۲۳،۲۴).

تعیین مقدار مالون دی آلدهید در هوای بازدمی در مطالعات مختلفی انجام شده است؛ به عنوان مثال Larstad و همکارانش مطالعه‌ای را با هدف تعیین مالون دی آلدهید در کندانس هوای بازدمی افراد مبتلا به آسم انجام دادند(۱۰)، و یا Romieu و همکارانش میزان مالون دی آلدهید هوای بازدمی را به عنوان یک بیومارکر مواجهه با آلودگی‌های ناشی از ترافیک در مکزیک در کودکان آسمی اندازه‌گیری نمودند(۵).

نتیجه‌گیری

هر چند در این مطالعه کارایی روش پیشنهادی برای بررسی بیومارکرهای کندانس هوای بازدمی مورد تایید قرار گرفت، اما محدودیت‌هایی نیز در شیوه آزمایشات وجود دارد که پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی حذف گردد.

دستگاه ساخته شده در این پژوهش فاقد سیستم موثری در حذف بزاق بوده که می‌تواند خطایی را در نتایج ایجاد نماید. توصیه می‌گردد سیستم‌های مورد استفاده در مطالعات بعدی، سیستمی را جهت حذف بزاق احتمالی در نمونه‌ها به دستگاه اضافه نمایند. علاوه بر این قرار دادن سنسوری در انتهای سیستم جهت تخمین حجم هوای بازدمی می‌تواند باعث طبیعی شدن مقدار بیومارکر جمع‌آوری شده و به دست آمدن نتایجی گردد که قابلیت مقایسه بهتر با سایر مطالعات را داشته باشد.

منابع

1. Risby TH, Solga S. Current status of clinical breath analysis. Applied Physics B. 2006;85(2-3): 421-6
2. Predy V, Reilly M, Mantlc O, Peters T. Oxidative damage in liver diseases. JIFCC.1998; 10: 16-9
3. Kharitonov SA, Barnes PJ. Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. Biomarkers. 2002; 7(1): 1-32
4. Corradi M, Alinovi R, Goldoni M, Vettori MV, Folesani G, Mozzoni P, et al. Biomarkers of oxidative stress after controlled human exposure to ozone. Toxicology letters.2002;134(1):219-25
5. Romieu I, Barraza-Villarreal A, Escamilla-Nuñez C, Almstrand AC, Diaz-Sanchez D, Sly PD, et al. Exhaled breath malondialdehyde as a marker of effect of exposure to air pollution in children with asthma. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2008;121(4): 903-9
6. Guentsch A, Preshaw PM, Bremer-Streck S, Klinger G, Glockmann E, Sigusch BW. Lipid peroxidation and antioxidant activity in saliva of periodontitis patients: effect of smoking and periodontal treatment. Clinical oral investigations. 2008; 12(4):345-52
7. Syslová K, Kačer P, Kuzma M, Najmanová V, Fenclová Z, Vlčková Š, et al. Rapid and easy method for monitoring oxidative stress markers in body fluids of patients with asbestos or silica-induced lung diseases. Journal of Chromatography B. 2009; 877(24): 2477-86
8. Caglieri A, Goldoni M, Acampa O, Andreoli R, Vettori MV, Corradi M, et al. The effect of inhaled chromium on different exhaled breath condensate biomarkers among chrome-plating workers. Environmental health perspectives. 2006; 114(4): 542-46
9. Gube M, Ebel J, Brand P, Göen T, Holzinger K, Reisgen U, et al. Biological effect markers in exhaled breath condensate and biomonitoring in welders: impact of smoking and protection equipment. International archives of occupational and environmental health. 2010; 83(7): 803-11
10. Lärstad M, Ljungkvist G, Olin AC, Torén K. Determination of malondialdehyde in breath condensate by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Journal of Chromatography B. 2002; 766(1): 107-14
11. Miekisch W, Schubert JK, Noeldge-Schomburg GF. Diagnostic potential of breath analysis-focus on volatile organic compounds. Clinica Chimica Acta. 2004; 347(1): 25-39
12. Pleil JD, Lindstrom AB. Measurement of volatile organic compounds in exhaled breath as collected in evacuated electropolished canisters. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. 1995; 665(2): 271-9
13. Von Basum G, Dahnke H, Halmer D, Hering P, Mürtz M. Online recording of ethane traces in human breath via infrared laser spectroscopy. Journal of Applied Physiology.2003;95(6): 2583-90
14. Araneda Valenzuela OF, Salazar Encina MP. Design and evaluation of a device for collecting exhaled breath condensate. Jornal Brasileiro de Pneumologia. 2009; 35(1): 69-72.

Downloaded from tkj.ssu.ac.ir at 12:20 IRST on Tuesday September 26th 2017

15. Mutlu GM, Garey KW, Robbins RA, Danziger LH, Rubinstein I. Collection and analysis of exhaled breath condensate in humans. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2001; 164(5): 731-7
16. Horvath I, Hunt J, Barnes P. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. European Respiratory Journal. 2005; 26(3): 523-48
17. Amann A, Miekisch W, Pleil J, Risby T, Schubert J. Methodological issues of sample collection and analysis of exhaled breath. Chapter 7, Maney Publishing, Leeds, Uk, 2010; 49:96-114
18. Yao S, Rojanasakul LW, Chen Z, Xu Y, Bai Y, Chen G, et al. Fas/FasL pathway-mediated alveolar macrophage apoptosis involved in human silicosis. Apoptosis. 2011; 16(12): 1195-204
19. Saburi S, Mohtadinia J, Ali-Asgarzadeh A, Nomi-Gholzar S, Yusefirad E. Synergistic effects of vitamin A and extremely low frequency electromagnetic field (50HZ) on limb bud development in Balb/c mouse. J Shahrekord Univ Med Sci. 2010; 12 (2) :1-6
20. Block G, Dietrich M, Norkus EP, Morrow JD, Hudes M, Caan B, et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. American Journal of Epidemiology. 2002; 156(3): 274-85
21. Rouzbahani R, Asgary S, Naderi G, Dehghan Nejad M, Rezaei F . Comparison of Plasma Lipid Peroxidants, Glycosilated Hemoglobin, Conjugated Dienes and CPR Level in Smokers and Non-smokers Men, Journal of Isfahan Medical School, 2009; 27(93):115
22. Rostami M, Jarfi M. The Evaluation of Serum Nitrite, Nitrate and Malonyldialdehyde Levels in Smokers. mljgoums. 2009; 3 (2)
23. Mol MJ, de Rijke YB, Demacker PN, Stalenhoef AF. Plasma levels of lipid and cholesterol oxidation products and cytokines in diabetes mellitus and cigarette smoking: effects of vitamin E treatment. Atherosclerosis. 1997; 129(2): 169-76
24. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. Clinical chemistry. 1997; 43(7): 1209-14

Downloaded from tkj.ssu.ac.ir at 12:20 IRST on Tuesday September 26th 2017