Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services
Vol. 35, No. 4, Oct. – Nov. 2013, Pages: 96-105

Review of Exhaled Biomarkers in Different Pulmonary Diseases

Maryam Khoubnasabjafari[1], Khalil Ansarin[1], Abolghasem Jouyban[2*]

[1]Tuberculosis and Lung Disease Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[2]School of Pharmacy, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 19 Apr, 2013 Accepted: 16 Jun, 2013

Abstract

Presence of ~3000 known different compounds in human exhaled breath are reported concentrations their are changing in different diseases and can be used as biomarkers. This review (consisting of 58 papers) focused on the available knowledge on exhaled biomarkers mainly nitric oxide, hydrogen peroxide, aldehydes and hydrocarbons. Nitric oxide has been used in many pulmonary inflammatory diseases including asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), diagnosis of atopic asthma and chronic cough as well as monitoring is of corticosteroid therapy. Hydrogen peroxide is increased in asthma, acute respiratory distress syndrome, cystic fibrosis, COPD, lung cancer and also in systematic disease such as breast cancer and rhumatic arthritis. Exhaled aldehydes is monitoring also useful for the oxidative stress. An inverse correlation was observed between malondialdehyde and FEV_1. Hydrocarbons, such as benzene and toluene, are increasing in lung cancer, cardiac transplant rejection, asthma, rhumatic arthritis, acute myocardial infarction and schisophrenia. Monitoring of exhaled biomarkers is a non-invasie, repeatable, real time measurment and applicable to children. Therefore, investigations on exhaled biomarkers have attracted more attention in respiratory medicine, and development of sensitive and specific analytical methods is highly demanding.

Keywords: Exhaled biomarkers, Nitric oxide, Hydrogen peroxide, Aldehydes, Hydrocarbons, Pulmonary diseases

*Corresponding author:
E-mail: ajouyban@hotmail.com

مقاله مروری

مروری بر بیومارکرهای بازدمی در بیماریهای ریوی

مریم خوب نسب جعفری: مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
خلیل انصارین: مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
ابوالقاسم جویبان : دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات کاربردی داروئی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، نویسنده رابط:
Email: ajouyban@hotmail.com

دریافت: ۹۱/۱۰/۳۰ پذیرش: ۹۱/۱۲/۲۶

چکیده

حدود ۳۰۰۰ ترکیب مختلف در بازدم انسانی گزارش شده و تغییرات غلظت برخی از آنها به بیماریهایی ارتباط داده شده و امکان بکارگیری بیومارکرهای بازدمی در تشخیص و درمان مورد توجه مجامع علمی قرار گرفته است. این مطالعه (مشتمل بر ۵۸ منبع) مروری بر بیومارکرهای بازدمی با تأکید بر مهم ترین آنها (نیتریک اکسید، هیدروژن پراکسید، آلدئیدها و هیدروکربن ها) می باشد. نیتریک اکسید در آسم، بیماری انسدادی مزمن ریه (COPD)، تشخیص آسم اتوپیک، تشخیص افتراقی سرفه مزمن و ارزیابی پاسخ به درمان با کورتن استنشاقی مورد استفاده قرار می گیرد. هیدروژن پراکسید در آسم ، سندرم دیسترس حاد تنفسی ، فیبروز کیستیک، COPD و سرطان ریه افزایش نشان می دهد. آلدئید های بازدمی مارکری برای اندازه گیری درجه استرس اکسیداتیو می باشند. در COPD ارتباط معکوس مابین مالون دی آلدئید و حجم ثانیه اول بازدم (FEV_1) وجود دارد. غلظت هیدروکربنهایی مانند بنزن، تولوئن در بیماریهایی مانند سرطان ریه، رد پیوند قلبی، آسم برونشی، آرتریت روماتوئید، انفارکتوس حاد میوکارد و شیزوفرنی افزایش نشان می دهد. پایش بیومارکرهای بازدمی، یک روش غیر تهاجمی با امکان تکرار اندازه گیری، ارزان، واجد قابلیت جابجایی و قابلیت انجام در کودکان را دارا می باشند. از این رو بررسی بازدم ریه موضوع مورد علاقه جدید در بیماریهای ریوی می باشد و نیاز به انجام تحقیقات بیشتری برای تحلیل و شناسایی بیومارکرهای تنفسی می باشد.

کلید واژه: بیومارکرهای تنفسی، نیتریک اکسید، هیدروژن پراکسید، آلدئیدها، هیدروکربن ها، بیماریهای ریوی

مقدمه

از زمانهای گذشته مشخص بوده که بروز بعضی بیماریها با تغییراتی در بوی بازدم همراه بوده و برای تشخیص اولیه بیماری استفاده شده است. دوران مدرن تستهای بازدمی در سال ۱۹۷۱ و با شناسائی حدود ۲۰۰ ترکیب موجود در بازدم افراد سالم آغاز گردید (۱). فرضیه غربالگری تومورهای سرطانی بر اساس تشخیص بو توسط سگ ها اولین بار در سال ۱۹۸۹ ارائه گردید (۲). فیلیپس و همکاران (۳) توانستند با استفاده از تغییرات ۲۲ ترکیب، بین افراد سالم و بیمار تمایز قائل شوند. حدود ۳۰۰۰ ترکیب فرار در بازدم انسانی یافت گردیده و از این تعداد، حدود ۲۰۰ نوع آن شایعتر می باشند، بازدم انسانی شامل ترکیبات غیرآلی (مانند نیتریک اکسید (NO)، منواکسید کربن، اکسیژن، دی اکسیدکربن)، ترکیبات فرار آلی مانند (هیدروکربن ها، الکلها، کتونها، آلدئیدها و استرها) و مواد غیر فراری مانند ایزوپروستان، سیتوکین ها، لوکوترین ها و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) می باشد (۴). جدول ۱، خلاصه ای از ترکیبات فرار بازدمی را در بیماریهای مطالعه شده با ذکر منبع مطالعه نشان می دهد (۱۲-۵). اغلب این ترکیبات در دمای اتاق فرار بوده و با بکارگیری روش های تجزیه ای متعدد (۱۵-۱۳) تعیین مقدار می شوند که با ذکر منابع در جدول ۲ آورده شده است، منشاء آنها اگزوژن یا اندوژن بوده و چرخش ترکیبات فرار بصورت شکل ۱ نمایش داده اند (۳). آنالیز

ترکیبات بازدمی جایگزین مناسب و ساده ای برای آزمایشات رایج در تشخیص آزمایشگاهی بوده و تحقیقات قابل توجهی به تحلیل و شناسایی بیومارکرهای تنفسی اختصاص داده شده است. عمده ترین مزایای آنالیز بازدمی شامل: غیر تهاجمی بودن، امکان تکرار اندازه گیری، ارزان، قابلیت جابجائی (Portability) تجهیزات مربوطه، توان بالقوه برای آنالیز در زمانهای متفاوت و قابلیت انجام در کودکان، نوزادان و افراد با بیماری شدیدی که توان انجام تستهای تهاجمی را ندارند، دارا می باشد (۱۶). معایب عمده این روش: امکان تداخل با رژیم غذائی و محیط، نداشتن استانداردهای مربوطه، قابلیت اتکاء پائین، امکان کم ذخیره سازی نمونه ها و پذیرش پائین توسط پزشکان (۵) می باشد. عمده ترکیبات بازدمی که در تشخیص بیماریها مورد توجه قرار گرفته و مطالعات بیشتری روی آنها انجام شده است شامل NO، H_2O_2، آلدئیدها و هیدروکربن ها میباشند که در این مطالعه بصورت اجمالی مرور شده اند. مقالات مروری متعددی در خصوص اهمیت بالینی و روش های اندازه گیری بیومارکرهای بازدمی (۴، ۵، ۱۳، ۲۵-۱۶)، اهمیت بالینی و روش های اندازه گیری NO (۳۲-۲۶)، اهمیت بالینی و روش های اندازه گیری هیدروکربن ها (۳۵-۳۳) و H_2O_2 (۳۶) منتشر شده اند.

نیتریک اکسید

NO حاصل از گشاد کننده های عروقی نیترویی (نظیر نیتروگلیسیرین و نیتروپروساید) با اثر روی غشای عضلات صاف عروق، گوانیلات سیکلاز را فعال و منجر به افزایش گوانوزین مونوفسفات حلقوی (cGMP) و گشادسازی عروق می شود (۳۷). NO بر روی تون آندوتلیوم عروق ریوی اثر کرده و نقش مهمی در ونتیلاسیون-پرفیوژن بازی می کند. عملکردهای دیگر NO در زمینه التهاب، ترومبوز، ایمنی و انتقال عصبی می باشند. بیان ژن چندین فاکتور رشد (مثل فاکتور رشد اندوتلیال و فاکتور رشد مشتق از پلاکت) را مهار کرده و از پرولیفراسیون عضلات صاف عروق جلوگیری می کند. بر این اساس، کمبود NO می تواند پرولیفراسیون سلولهای عروقی را تسهیل و منجر به بازسازی مجدد عروق ریوی گردد (۲۸).

منشاء تولید

NO آندوژن از تبدیل L-آرژینین به L-سیترولین بوسیله آنزیم NO سنتتاز (NOS) تولید می شود (شکل ۲). NOS بطور رقابتی بوسیله مشتقات آرژینین ((منو متیل-ال- آرژینین (L-NMMA)، نیترو آرژینین متیل استر (L-NAME) و L-نیترو آرژینین (L-NOARG)) مهار می شود. NO تولید شده می تواند به یونهای نیتریت (NO_2^-)، نیترات (NO_3^-) و پراکسی نیتریت ($ONOO^-$) اکسیده شود (۲۶). NOS راههای هوایی با مکانیسم های گوناگونی تنظیم شده و نقشهای متفاوتی را در پاتوفیزیولوژی ریه بازی می کند. سه ایزوفرم تشکیل دهنده NOS شامل نورونی (NOS_1)، نوع القایی (NOS_2) و اندوتلیالی (NOS_3) میباشند. NOS_1 و NOS_3 بعنوان تنظیم کننده موضعی (نظیر نوروترانسمیترها) با افزایش کلسیم داخل سلولی عمل کرده و NOS_2 بوسیله تحریکات التهابی، سیتوکین ها و اندوتوکسین ها القأ گردیده و مقدار زیادی NO تولید می کند که بعنوان اثر پیش التهابی عمل می کنند. بهرحال منشأ NO بازدمی در آسم از NOS_2 سلولهای اپی تلیال و ماکروفاژهای راههای هوایی می باشد اگرچه سایر انواع نیز می توانند مشارکت داشته باشند. میزان بیان NOS_3 در بیماری مزمن انسدادی ریه (COPD) کاهش پیدا می کند مخصوصاً در موارد شدید که منجر به تخریب شدید دیواره آلوئلها در آمفیزم می شود. نوع NOS_1 یا نورونی در پایانه اعصاب کولینرژیک در پنوموسیت های نوع یک و سلولهای اپی تلیال راههای هوایی وجود داشته و بعنوان عامل مهاری غیر آدرنرژیک و غیر کولینرژیکی عمل می کند و میزانش درCOPD و در نتیجه استرس اکسیداتیو افزایش پیدا می کند (۳۸). افزایش بیان ایزوفرم NOS_2 در بیماران آسمی و کاهش آن بعد از درمان با کورتن استنشاقی مشاهده می گردد (۳۹).

تغییرات در سلامت و بیماری

نقش پایش NO در تشخیص و درمان آسم در سال ۲۰۰۸ مورد تائید سازمان غذا و داروی امریکا قرار گرفته است (۵). در جدول ۳، موارد افزایش و کاهش کسر NO بازدمی جمع آوری شده اند.

NO در تمامی بافت های بدن وجود داشته، و با غلظت ۵ تا ۱۰ قسمت در بیلیون (ppb) در بازدم یافت شده و نقش مهمی را در فیزیولوژی ریه بازی می کند (۲۶). در افراد سالم میزان NO با نگه داشتن نفس (زدن کلیپس به بینی)، با مصرف زیاد مواد غذایی نیترات دار، مصرف گشاد کننده های برونش، مصرف آرژینین و ورزش افزایش می یابد (۲۸). در مردان مقدار آن حدود ۳۰-۲۰٪ بیشتر از زنان بوده (۴۰) و تغییرات این میزان با سیکل قاعدگی خانمها نیز مشاهده گردیده، بطوریکه افزایش ۱۰۰٪ پیک NO در وسط سیکل گزارش شده است (۴۱). همچنین با سن، قد، وزن، نژاد، جنسیت و میزان جریان بازدم تحت تأثیر قرار می گیرد (۴۲). افزایش مقدار NO در بیماریهایی مانند آسم، COPD و در لنفانژیومیوماتوزیس دیده می شود که ممکن است مربوط به بیان NOS_3 باشد. افزایش مقدار NO در همراهی با سپسیس باعث کاهش فشار خون می شود. در افراد سیگاری، مصرف الکل، مصرف کورتن استنشاقی، اختلال حرکات مژکهای تنفسی، بعد از انجام مانور اسپیرومتری، و برخی از بیماریهای ریوی غیر آسمی مانند فیبروز کیستیک، دیسپلازی برونکو پولمونر، پنومونی و آنفولانزا میزان NO پایین می باشد. کاهش مقدار آن در هیپرتانسیون ریوی و التهاب بینابینی حاد ریه نیز مشاهده می شود (۷). با توجه به اینکه NO و NOS بعد از درمان به مقادیر نرمال بر میگردند از ردیابی آنها می توان بعنوان مارکر مفید در التهابات ریه استفاده کرد (۴۰). افزایش میزان NO برای تعیین موارد آتوپی از غیر آتوپی، بررسی میزان پاسخ به درمان با کورتون استنشاقی (بعد از ۲-۴ هفته) و همچنین برای تشخیص آسم از علل سرفه مزمن مفید می باشد (۴۳). برای تعیین پروگنوز تشدید آسم در کودکان

بکار رفته ولی برخی از محققین مخالف این نظریه می باشند (۴۴). بدلیل غیر تهاجمی بودن، قابل تکرار پذیر بودن و قابلیت بکارگیری در کودکان و بیماران با انسداد شدید راههای هوایی و نیز حساس تر بودن آن نسبت به سایر تستها ، اندازه گیری نیتریک اکسید بازدمی ابزار مکملی در کنار سایر روشهای تشخیصی پیشنهاد شده است (۴۰). داروهای ایمنو ساپرسیو مانند سیکلوسپورین و راپامایسین مهار کننده NOS_2 بوده و بررسی NO بازدمی می تواند برای پایش اثر این داروها بکار رود (۴۵). جدول ۴، مقادیر NO گزارش شده در سلامت و بیماری را خلاصه کرده است (۵۸، ۳۸ و ۵).

هیدروژن پراکسید

فعالیت سلولهای التهابی (مانند نوتروفیل ها، ماکروفاژها و ائوزینوفیل ها) باعث افزایش تولید رادیکال آزاد اکسیژن و در نتیجه تولید H_2O_2 می گردد (۱۷). H_2O_2 در دمای فیزیولوژیک وارد فاز گازی شده و در هوای بازدمی قابل ردیابی است.

منشاء تولید

H_2O_2 از طریق آنزیمی و غیر آنزیمی از طریق ناپدید شدن (دیسموتاسیون) سوپراکسید ها در قسمت های بالا و پایین راههای هوایی تولید می گردد. در افراد سالم تولید H_2O_2 توسط انتقال الکترون در طی چرخه تنفس میتوکندری اتفاق می افتد. بنابراین تولید H_2O_2 نشانه افزایش فعالیت NADPH اکسیداز در لکوسیتهای پلی مورفونوکلوئر، منوسیت، ماکروفاژها، سلولهای آندوتلیال و لنفوسیت های B می باشد. تخریب آن توسط کاتالاز و پراکسیداز ها انجام می گیرد (۲۴).

تغییرات در سلامت و بیماری

در آسم، COPD، سندرم دیسترس حاد تنفسی ، فیبروز کیستیک، سرطان ریه و در افراد سیگاری سالم افزایش می یابد. در این افراد بعد از درمان با کورتون و بعد از درمان طولانی با ان استیل سیستئن این میزان کاهش می یابد و این مطلب می تواند بیانگر این باشد که عمده منبع H_2O_2 از سلولهای التهابی مانند نوتروفیل و ماکروفاژ موجود در خون محیطی و راههای هوایی می باشد (۲۴). مطالعات انجام شده توسط انصارین و همکاران نشان میدهد که میزان H_2O_2 در بیماران COPD نسبت به بیماران آسمی افزایش بیشتر و نسبت به افراد سالم غیر سیگاری افزایش چندین برابری را نشان می دهد (۴۶). H_2O_2 در بیماریهای التهابی دیگری مانند سل، فیبروز ریوی ایدیوپاتیک، پنومونی کسب شده از جامعه، سندرم تنفسی حاد ریوی، آسم برونشی، COPD، اختلالات سیستمیک با درگیری ریوی مانند اسکلرودرمی و در بیماریهای غیر ریوی مانند اورمی، سرطان سینه و سرماخوردگی نیز بعنوان بیومارکر مطرح میباشد (۳۶). میزان H_2O_2 در بیماریهایی مانند برونشکتازی، آرتریت روماتوئید با درگیری بافت بینابینی ریه، پنومونی و برای پیشگویی التهاب راههای هوایی در افراد سالمی که در معرض ریسک فاکتورها بوده اند افزایش و بعد از درمان کاهش پیدا می کند. این مارکر ابزار مفیدی برای ارزیابی تشدید بیماریهای ریوی وکاهش مرگ و میر و مارکر مهمی برای ارزیابی پاسخ به درمان می باشد (۴۷). جدول ۵ مقادیر هیدوژن پراکسید را در حالتهای سلامت و بیماری نشان می دهد (۴۷).

آلدئیدها

آلدئیدهای بازدمی، بیومارکری برای اندازه گیری درجه استرس اکسیداتیو می باشند. آلدئید ها شامل مالون دی آلدئید (MDA)، هگزانال، هپتانال و نونانال بوده و افزایش آنها در بیماران COPD در مقایسه با افراد غیر سیگاری سالم مشاهده شده (۴۸) و تغییرات آلدئیدها برای نشان دادن موتاژنیسیته و کارسینوژنیسیته نیز بکار می آیند (۴۲).

منشاء تولید

رادیکال های آزاد با لیپیدها واکنش های زنجیره ای مخربی را شروع می کنند. اکسیداسیون لیپید باعث تولید رادیکال بسیار فعال آلکیل می شود که به سرعت با اکسیژن واکنش داده و رادیکال پراکسیل تولید می کند. رادیکالهای پراکسیل نیز می توانند باعث اکسید شدن لیپیدها شوند و لیپید هیدرو پراکسیدهایی تولید کنند که به ترکیبات متعددی نظیر الکلها، آلدئیدها، فومارات آلکیلها، کتونها، هیدروکربنها و رادیکالهایی نظیر آلکوکسیل تجزیه می شوند (شکل ۳). MDA، یکی ازمحصولات پراکسیداسیون لیپیدی است که در حضور آهن یا مس تولید می شود. MDA و آلدئید های مشابه حاصل از پراکسیداسیون لیپید می توانند با مکانهای فعال نوکلئوفیل در DNA، پروتئین ها و فسفولیپید ها واکنش داده و ضایعات متنوعی را ایجاد کنند. بر خلاف لیپید ها، آلدئید های مشتق از اینها، محلول در آب بوده و می توانند از محل تولید به سایر مکانهای سلول انتشار یافته و آسیب را به خارج سلول دست نخورده هم منتقل کنند (۴۹).

تغییرات در سلامت و بیماری

سطح بالای MDA در بیماریهای التهابی ریه (مانند آسم، COPD و برونشکتازی) مشاهده گردیده است، البته در COPD این میزان بیشتر از آسم و برونشکتازی می باشد، در افراد آسمی بدون در نظر گرفتن شدت بیماری تفاوتی در MDA دیده نمی شود در حالی که میزان MDA با کورتن استنشاقی در مقایسه با سایر درمانها پایین تر نشان می دهد. در COPD ارتباط معکوس مابین MDA و حجم ثانیه اول بازدم (FEV_1) وجود دارد. همچنین میزان MDA مابین سیگاریهای اخیر و سابق تفاوتی را نشان نمی دهد (۵۰). MDA هوای بازدمی اختصاصیت بیشتری نسبت بهMDA پلاسما و ادرار در تشخیص التهاب دارد (۵۱). جدول ۶ مقادیر MDA را درحالتهای مختلف سلامت و بیماری نشان می دهد.

جدول ۱: ترکیبات فرار بازدمی در بیماریهای مختلف

ترکیب فرار بازدمی	منشاء تولید	بیماری مرتبط	منبع
۲- پروپانول	احیاء استون، منابع خارج بدنی	بیماریهای گوناگون	۵
استالدئید	اکسیداسیون اتانول، فلور میکروبی روده ای	پلی مورفیسم آنزیمی با فعالیت کم	۵
استون	متابولیسم استیل کوآنزیم آ	دیابت	۵
آکریلونیتریل	منابع خارج بدنی، دود سیگار	مواجه با دود و سیگار	۵
بنزن	منابع خارج بدنی، دود سیگار، دود خودروها	سرطان ریه، سرطان سینه، مواجه با دود و سیگار	۵
اتان	پراکسیداسیون لیپیدی، استرس اکسیداتیو	بیماریهای گوناگون	۵
اتانول	متابولیسم باکتریائی	کبد چرب غیرالکلی، چاقی	۵
سولفید هیدروژن	باکتریهای دهانی	بیماریهای دندانی	۵
ایزوپرن	متابولیسم کلسترول، عضلات	بیماریهای قلبی –عروقی، ردیابی پاسخ به درمان با داروهای پائین آورنده چربی خون، دیستروفی عضلانی	۵و۶
متان	متابولیسم باکتریائی	سوء جذب کربوهیدراتها	۵
نیتریک اکسید	التهاب راه های هوائی	آسم، آلرژی، هیپرتانسیون ریوی، اسکلرودرمی، لنفانژیومیوماتوزیس، بیماری کرون	۵و ۷ و ۸
پنتان	پراکسیداسیون لیپیدی،استرس اکسیداتیو	سرطان سینه، رد پیوند قلبی، سکته حاد قلبی، آرتریت روماتوئید	۹-۱۲
تری متیل آمین	فلور میکروبی روده ای	آترواسکلروزیس، بیماریهای قلبی –عروقی	۵

جدول ۲: روش های تجزیه ای رایج مورد استفاده در آنالیز بازدمی

نام روش	حد تشخیص	مزیت	محدودیت	منبع
کروماتوگراف گازی –طیف سنج جرمی (GC-MS)	قسمت در تریلیون (ppt)	بسیار حساس و انتخابی	زمان طولانی آنالیز، نیاز به استانداردها، ضرورت پیش تغلیظ، هزینه بالا	۱۳
واکنش انتقال پروتون –طیف سنج جرمی (PTR-MS)	قسمت در بیلیون (ppb)	آنالیز زمان واقعی (Real time analysis)	محدوده باریک قابل تشخیص، عدم تعیین هویت ترکیبات تحت آنالیز	۱۳
جریان لوله ای یون انتخابی –طیف سنج جرمی (SIFT-MS)	ppt-ppb	آنالیز زمان واقعی، محدوده وسیع ترکیبات قابل تشخیص	عدم تعیین هویت ترکیبات تحت آنالیز	۱۳
کاسکت کوانتوم لیزری –طیف سنج میانی مادون قرمز (QCL-mid-IR)	ppb	آنالیز زمان واقعی، امکان برای مینیاتوریزه کردن و قابل حمل شدن	محدودیت های تکنولوژیک، انتخابی بودن ضعیف روش	۱۴
سنسورها و بینی های الکترونیک	نامشخص	آنالیز زمان واقعی، امکان برای مینیاتوریزه کردن و قابل حمل شدن	عملکرد بر اساس شناخت الگوها (Pattern recognition)، عدم تعیین هویت ترکیبات تحت آنالیز	۱۵

جدول ۳: بیماریهایی که کسر نیتریک اکسید بازدمی را تحت تأثیر قرار می دهند.

افزایش	کاهش	متغیر
آسم آتوپی	فیبروز کستیک	برونشکتازی
رینیت آلرژیک	دیسکینزی اولیه صفراوی	COPD پایدار
تشدید COPD	هیپرتانسیون ریوی	آلوئولیت فیبروزان
برونشکتازی	پنومونی	اسکلروز سیستمیک
سرطان ریه	رفلاکس گاسترو ازوفاگال	سارکوئیدوزیس
رد حاد پیوند ریه	تراکومالاسی حنجره	
عفونت رینوویرال	عفونت HIV	
سل ریوی	خونریزی آلوئولار منتشر	
سیروز کبدی		
سندرم هپاتو پولمونار		
بیماریهای التهابی روده		
لوپوس اریترماتوز سیستمیک		

جدول ۴: مقادیر نیتریک اکسید بازدمی در بیماریهای مختلف (۵، ۳۸ و ۵۸)

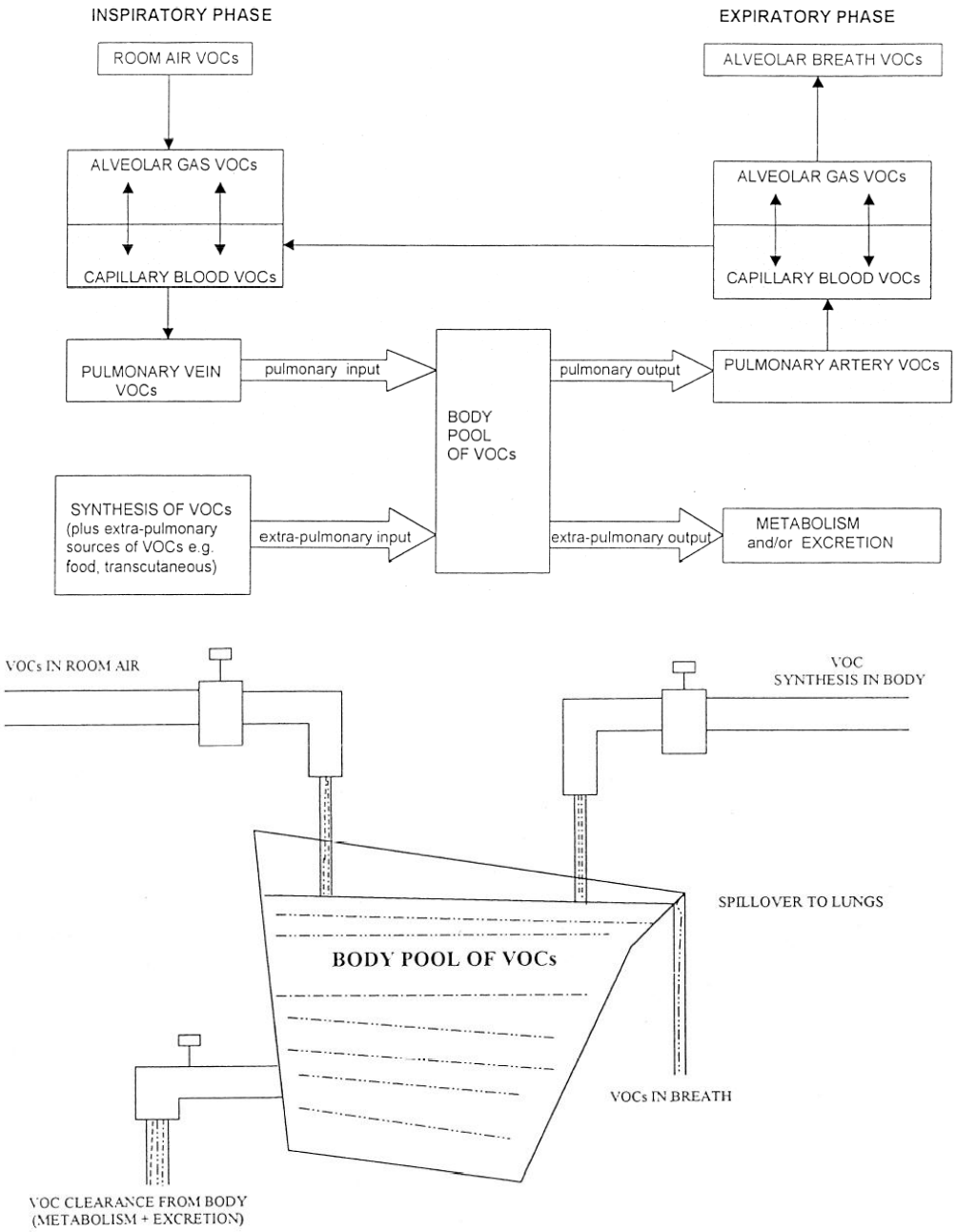
وضعیت	مقدار	محدوده تغییرات
اسکلروز سیستمیک	۱۴/۷	۹/۳-۱۶/۹
آسمی	۴۷/۳۹	۷۱/۳۶-۳۱/۳۶
افراد سالم	۱۵/۸۶	۱۷/۶۷-۱۴/۲۳
کودکان سالم	زیر ۲۵	
جوانان	۱۲	
افراد مسن	۳۵	

جدول ۵: مقادیر هیدروژن پراکسید بازدمی در حالتهای سلامت و بیماری (۴۷)

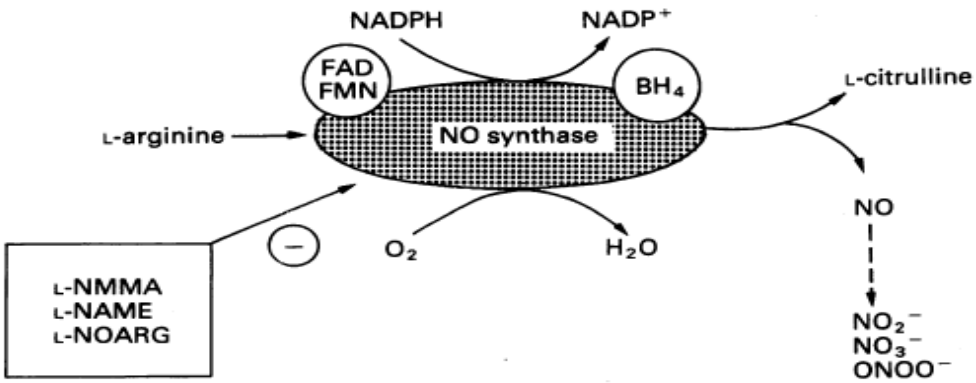
وضعیت	هیدروژن پراکسید (نانومول برلیتر)
سالم غیرسیگاری در مناطق شهری	۳۴۰-۷۶۰
سالم غیرسیگاری در مناطق روستایی	۲۰-۱۴۰
سیگاری (با سابقه مصرف ۴۰ سال)	۱۱۸۰-۳۰۴۰
سیگاری (با سابقه مصرف ۳۰ سال)	۷۸۰-۱۰۶۰
سیگاری (با سابقه مصرف ۱۵ سال)	۶۸۰-۸۲۰
سیگاری (با سابقه مصرف ۱۲ سال)	۳۴۰-۶۲۰
سیگاری (با سابقه مصرف ۸ سال)	۲۴۰-۵۴۰
سیگاری (با سابقه مصرف ۶ سال)	۲۶۰-۳۰۰
سیگاری (با سابقه مصرف ۵ سال)	۲۴۰
سیگاری (با سابقه مصرف ۲ سال)	۲۰۰
سالم سیگاری در مناطق شهری	۲۰۰-۲۲۲۰
سالم سیگاری در مناطق روستایی	۱۸۰
COPD پایدار	۳۳۵
COPD تشدید یافته	۹۲۲
سیگاری آسمی حاد قبل از درمان	۱۰۲۰
سیگاری آسمی حاد بعد از درمان	۳۲۰
غیر سیگاری آسمی حاد قبل از درمان	۴۰۰-۱۱۴۰
غیر سیگاری آسمی بعد از درمان	۱۰۰-۲۸۰
برونشکتازی سیگاری قبل از درمان	۳۴۰
برونشکتازی سیگاری بعد از درمان	۲۲۰
برونشکتازی غیر سیگاری قبل از درمان	۳۳۰-۳۴۰
برونشکتازی غیر سیگاری بعد از درمان	۲۰۰-۲۸۰
پنومونی قبل از درمان	۱۰۶۰-۱۱۸۰
پنومونی بعد از درمان	۵۴۰-۷۶۰
بیماری بینابینی ریه قبل از درمان	۲۲۰-۷۲۰
بیماری بینابینی ریه بعد از درمان	۲۱۰-۵۱۰

جدول ۶: مقادیر مالون دی آلدئید بازدمی در حالتهای سلامتی و بیماری (۵۰)

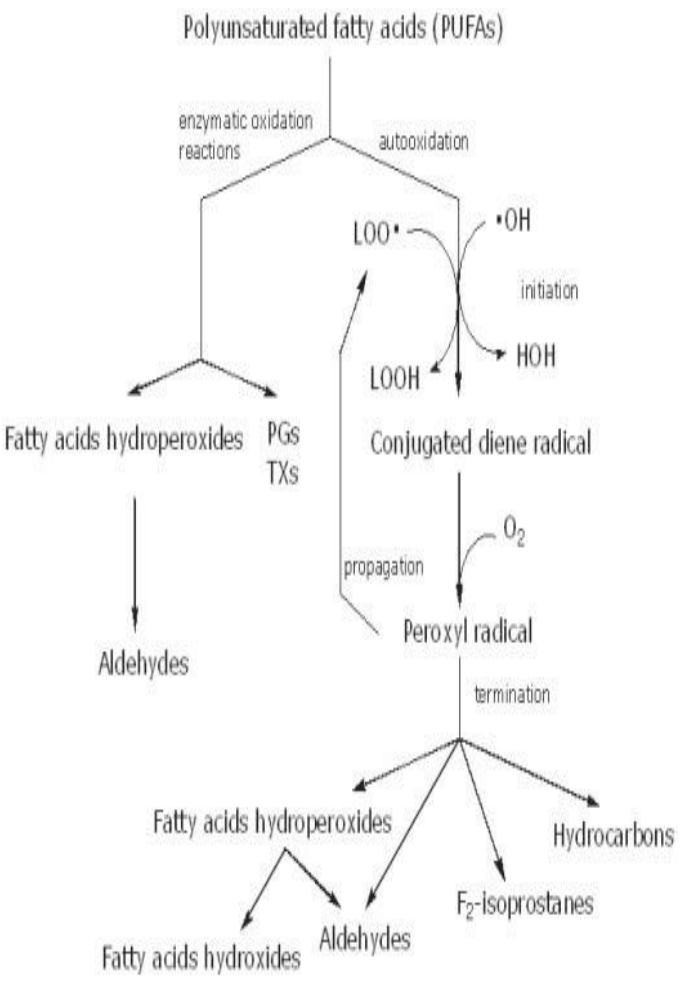
وضعیت	غلظت (نانومول برلیتر)
افراد سالم	۴-۲۵
آسم شدید	۱۴-۷۲
آسم متوسط	۶-۹۱
آسم خفیف	۶-۹۱
آسم درمان شده با کورتن استنشاقی	۶-۷۲
COPD شدید	۸-۱۲۶
COPD متوسط	۶-۹۱
COPD خفیف	۶-۵۴
فیبروز ایدیوپاتیک ریوی	۴-۷۹



شکل ۱: جذب، تولید، انتشار و دفع ترکیبات فرار(VOC) بر گرفته از منبع (۳)



شکل ۲. مکانیسم تولید NO آندوژن (۲۶)



شکل ۳: محصولات اکسیداسیون اسید های چرب غیر اشباع چند گانه (۵۷)

هیدروکربن ها

یک گروه اندوژن مهم از بیومارکرهای بازدمی، هیدروکربنها میباشند که بوسیله پراکسیداسیون لیپیدی تشکیل می شوند (شکل ۳). در طی التهاب گونه های رادیکال اکسیژن بوسیله سلولهای التهابی تولید میگردند این رادیکال اکسیژن با ساختمان لیپید غشایی واکنش داده و باعث انهدام اسیدهای چرب غیر اشباع می گردد. در کنار هیدروکربنها سایر مواد مانند ترکیبات نیتروژن، اکسیژن و گوگرددار توسط باکتریها و یا در طی روند های فیزیولوژیکی در کبد، کلیه و پانکراس تولید شده و توسط آنزیمهایی مانند سیتوکروم P450 اکسیداز به ترکیبات کوچکتر شکسته شده و یا بطور مستقیم وارد گردش خون شده و در نهایت بازدم می یابند (۲۳).

اتکینسون نقش بنزن و متابولیت های آن در بروز بدخیمی ها را بهمراه مکانیسم های پیشنهاد شده مرور کرده است (۳۵). شپرز و همکاران (۵۲) غلظت بنزن، تولوئن و گزیلن ها را در هوای ۴ مدرسه واقع در دو شهر ترکیه و نیز هوای بازدمی دانش آموزان این مدارس بررسی کرده و ارتباط آماری معنی داری بین غلظت آلاینده ها در هوای محیط و هوای بازدمی گزارش نمودند. در این مطالعه غلظت ترکیبات بر اساس مصرف سیگار در محیط بسته توسط اطرافیان نیز مطالعه شده و نتایج اختلاف معنی داری را در غلظت تولوئن برای موارد مواجه با سیگار نشان داده شده است غلظت های بالاتر بنزن در موارد مصرف سیگار در داخل سرویس مدرسه نیز معنی دار بوده است. بهنگام وجود پارکینگ متصل به محل اقامت غلظت های بازدمی بنزن، تولوئن و متا یا پارا گزیلن بطور معنی داری بیشتر بوده است (۵۲).

منشاء تولید

هیدروکربنهای بازدمی از سه منشاء ناشی می شوند (۵۳):۱) دود و مواد مرتبط با محیط نظیر استونیتریل، بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و گزیلن، ۲) مواد درون زا شامل مواد التهابی، مولدهای استروژن ها و متیلاسیون نظیر پنتان، ایزوپرن و متیل پنتان و ۳) گروه ناهمگونی از مواد با منشاء ناشناخته شامل اکتان، دکان، استیرن، و متیل پنتان. اتان و پنتان در طی تجزیه امگا ۶ و ۳ اسید های چرب غیر اشباع تولید می گردد. پنتان در چربیها ذخیره شده و به آهستگی در طی چندین روز آزاد می گردد و بوسیله سیتوکروم اکسیداز P450 کبدی متابولیزه می شود (۵۴).

تغییرات در سلامت و بیماری

غلظت هیدروکربنها در سرطان سینه، رد پیوند قلبی، آسم برونشی ، آرتریت روماتویید، انفارکتوس حاد میوکارد و شیزوفرنی افزایش می یابد (۵۴). هیدروکربنهایی مانند پنتان و اتان در بیماریهایی مانند آسم، COPD، آپنه خواب انسدادی افزایش نشان می دهد (۲۲).

سایر بیومارکرهای بازدمی

علاوه بر ترکیبات فرار موجود ،بازدم حاوی قطرات ریز آئروسلی (موسوم به تغلیظ شده های بازدمی(Exhaled breath condensate) (۵۵) و نیز ذرات ریز حاوی ترکیبات غیر فرار نظیر پروتئین ها می باشد (۵۶). موادی مانند لکوترین ها، پروستاگلاندین ها، ایزوپروستان و پروتئین هایی مانند آمیلاز و سیتوکین هایی مانند اینترلوکین IL۶– و فاکتور نکروز دهنده تومور (TNF) و اینترلوکین IL-1B در بیماریهای مختلف ریوی مشاهده گردیده است (۱۸). لکوترین LB_4 یک جاذب شیمیایی (Chemoattractant) قوی نوتروفیل ها می باشد که اساساً در فیزیوپاتولوژی COPD درگیر می باشد. PGE_2 یک برونکودیلاتور اندوژن که اثرات ضد التهابی در راههای هوایی دارد. ایزو پروستان یک ترکیب شبیه پروستاگلاندین ها می باشد که بطور مستقل از آنزیم سیکلواکسیژناز بوسیله رادیکالهای آزاد پراکسیداسیون اسید آراشیدونیک تولید می شود. این ترکیبات از مارکرهای مهم استرس اکسیداتیو بوده که از لحاظ شیمیایی پایدار و محصولات اختصاصی پراکسیداسیون لیپیدی می باشند.

نتیجه گیری

پایش التهاب و استرس اکسیداتیو راههای هوایی در تشخیص و کنترل بعضی بیماریهای ریه سودمند می باشد. تکنیکهای موجود

و دسترس شامل برونکوسکوپی، لاواژ برونکوآلوئولار و بیوپسی می باشند، انجام و تکرار این آزمایشات در بیماران (بخصوص در کودکان) بسیار تهاجمی می باشد. آنالیزهای بازدمی جایگزین مناسب و ساده برای آزمایشات رایج در تشخیص آزمایشگاهی می باشند، زیرا توان بالقوه تشخیصی، درمانی و احتمالا پیش بینی بروز بیماریهای گوناگون بوده ونیاز به بررسی های غیر تهاجمی التهاب و استرس اکسیداتیو را دارا می باشند. بررسی بازدم ریه موضوع مورد علاقه جدید در بیماریهای ریوی بوده و تحقیقات قابل توجهی به تحلیل و شناسایی بیو مارکرهای تنفسی اختصاص داده شده است، توسعه و تکامل آنالیتهای جدید باعث افزایش مطلوبیت برای آنالیزهای بازدمی بخصوص برای بیمارانی که روزانه مجبور به انجام پارامترهای بیوشیمی هستند، می باشند.

مهمترین مارکری که بطور وسیعی مورد استفاده قرار می گیرد، کسر نیتریک اکسید بازدمی می باشد اگرچه این روش ابزار مفیدی در ارزیابی بیماریهای ریه می باشد ولی محدودیتهای مانند عدم استفاده در موارد غیراتوپی افراد آسمی دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مرکز تحقیقات سل و بیماریهای ریوی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که حمایت مالی این تحقق را بعهده داشتند کمال تشکر و قدردانی می گردد. مطالعه حاضر بخشی از تحقیقات مرتبط با پایاننامه دکتری تخصصی پژوهشی دکتر مریم خوب نسب جعفری میباشد.

References

1. Pauling L, Robinson AB, Teranishi R, Cary P. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc Nat Acad Sci USA* 1971; **68**(10): 2374-2376.
2. Williams H, Pembroke A. Sniffer dogs in melanoma clinic? *Lancet* 1989; **8640**: 734-735.
3. Phillips M, Herrera J, Krishnan S, Zain M, Greenberg J, Cataneo RN. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *J Chromatogr B* 1999; **729**: 75-88.
4. Buszewski B, Kesy M, Ligor T, Aman A. Human exhaled air analytics: Biomarkers of diseases. *Biomed Chromatogr* 2007; **21**: 553-566.
5. Cikach Jr FS, Dweik RA. Cardivascular biomarkers in exhaled breath. *Prog Cardiovas Dis* 2012; **55**(1): 34-43.
6. King J, Mochalski P, Unterkofler K, Teschl G, Klieber M, Stein M, et al. Breath isoprene: Muscle dystrophy patients support the concept of a pool of isoprene in the periphery of the human body. *Biochem Biophys Res Comm* 2012; **423**: 526-530.
7. Tiev KP, Le-Dong NN, Hua-Huy T, Cabane J, Dinh-Xuan AT. Exhaled nitric oxide, but not serum nitrite and nitrate, is a marker of interstitial lung disease in systemic sclerosis. *Nitric Oxide* 2009; **20**: 200-206.
8. Quenon L, Hindryckx P, De Vos M, De looze D, Joos G, Brusselle G, et al. Hand-held fractional exhaled nitric oxide measurements as a non-invasive indicator of systemic inflammation in crohns disease. *Crohns Colitis* 2012; In press.
9. Hietanen E, Bartsch H, Bereziat JC, Camus AM, McClinton S, Eremin O, et al. Diet and oxidative stress in breast, colon and prostate cancer patients: A case-control study. *Eur J Clin Nutr* 1994; **48**: 575-586.
10. Sobotka PA, Gupta DK, Lansky DM, Costanzo MR, Zarling EJ. Breath pentane is a marker of acute cardiac allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 1994; **13**: 224-229.
11. Weitz ZW, Birnbaum AJ, Sobotka PA, Zarling EJ, Skosey JL. High breath pentane concentrations during acute myocardial infarction. *Lancet* 1991; **337**: 933-935.
12. Humad S, Zarling E, Clapper M, Skosey JL. Breath pentane excretion as a marker of disease activity in rheumatoid arthritis. *Free Rad Res Comms* 1988; **5**: 101-106.
13. Dummer J, Storer M, Swanney M, McEwan M, Scott-Thomas A, Bhandari S, et al. Analysis of biogenic volatile organic compounds in human health and disease. *Trends Anal Chem* 2011; **30**: 960-967.
14. Risby TH, Tittel FK. Current status of midinfrared quantum and interband cascade lasers for clinical breath analysis. *Opt Eng* 2010; **49**: 1-14.
15. Fens N, Zwinderman A, Van Der Schee M, De Nijs SB, Dijkers E, Roldaan AC, et al. Exhaled breath profiling enables discrimination of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Am J Res Crit Care Med* 2009; **180**: 1076-1082.
16. Kharitonov S, Barnes PJ. Exhaled markers of inflammation. *Cur Opinion Allerg Clin Immunol* 2001; **1**(3): 217-224.
17. Kharitonov S. Exhaled markers of inflammatory lung diseases: ready for routine monitoring? *Swiss Med Wkly* 2004; **134**: 175-192.
18. Montuschi P. Exhaled breath condensate analysis in patients with COPD. *Clin Chim Acta* 2005; **356**: 22-34.
19. Barnes PJ, Chowdhury B, Kharitonov SA, Magnussen H, Page CP, Postma D, et al. Pulmonary biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; **174**: 6-14.
20. Borrill ZL, Roy K, Singh D. Exhaled breath condensate biomarkers in COPD. *Eur Respir J* 2008; **32**(2): 472-486.
21. Popov TA. Human exhaled breath analysis. *Ann Alerg Asthma Immunol* 2011; **106**(6): 451-456.
22. Kim KH, Arajahan SH, Kabir. Areview of breath analysis for diagnosis of human health, *Trends Anal Chem* 2012; **33**: 1-8.
23. Van De Kant KDG, Van Der Sandle LJTM, Jobsis Q, Van Schayck OCP, Dompelling E. Clinical use of exhaled volatile organic compounds in pulmonary diseases: A systematic review. *Respir Res* 2012; in press.
24. Zhou M, Liu Y, Duan Y. Breath biomarkers in diagnosis of pulmonary diseases. *Clin Chim Acta* 2012; **413**: 1770-1780.
25. Luque De Castro MD, Fernandez-Peralbo MA. Analytical methods based on exhaled breath for early detection of lung cancer. *Trends Anal Chem* 2012; **38**: 13-20.

26. Barnes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 1993; **8**: 1034-1043.
27. Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J* 1993; **7**: 349-360.
28. Dweik RA. The promise and reality of niyric oxide in the diagnosis and treatment of lung diseases. *Cleve Clin J Med* 2010; **68**: 486-493.
29. Taha ZH. Nitric oxide measurements in biological samples. *Talanta* 2003; **61**: 3-10.
30. Gleb AF, Barnes PJ, George SC, Ricciardolo FLM, DiMaria G, Zamel N. Review of exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *J Breath Res* 2012; **6**: 047101.
31. Taylor DR. Advances in the clinical applications of exhaled nitric oxide measurements. *J Breath Res* 2012; **6**: 047102.
32. Abba AA. Exhaled nitric oxide in diagnosis and manegement of respiratory diseases. *Ann Thorac Med* 2013; **4**: 173-181.
33. Kneepkens, CMF, Lepage G, Roy CC. The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation. *Free Radical Biol Med* 1994; **17**: 127-160.
34. Ong CN, Lee BN. Determination of benzene and its metabolites: Application in biological monitoring of environmental and occupational exposure to benzene. *J Chromatogr B* 1994; **660**: 1-22.
35. Atkinson TJ. A review of the role of benzene metabolites and mechanisms in malignant transformation: Summative evidence for a lack of research in nonmyelogenous cancer types. *Int J Hyg Environ Health* 2009; **212**: 1-10.
36. Stolarek R, Bialasiewicz P, Krol M, Nowak D. Breath analysis of hydrogen peroxide as a diagnostic tool. *Clin Chim Acta* 2010; **411**: 1849-1861.
37. Samini M, Sharifzadeh M. Applied Pharmacology, Tehran University of Medical Sciences Press 2008; Chapter 34.
38. Barnes PJ, Dweik RA, Gleb AF, Gibson PG, George SC, Grasemann H, et al. Exhaled nitric oxide in pulmonary diseases. A comprehensive review. *Chest* 2010; **138**: 682-692.
39. Saleh D, Ernst P, Lim S, Barnes PJ, Giaid A. Increased formation of the potent oxidant peroxynitrite in the airways of asthmatic patients is associated with induction of nitric oxide synthase: Effect of inhaled glucocorticoid. *FASEB J* 1998; **12**: 929-937.
40. Bahna SL. Should exhaled nitric oxide measurement be part of routine asthma management? *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012; **109**: 289-291.
41. Kharitonov SA, Logan-Cinclair Busser CM, Shinebourne EA, Peak expiratory nitric oxide differences in men and women: Relation to the menustral cycle. *Br Heart J* 1994; **72**: 243-245.
42. Pierce JD, McCabe SH , Nicole White N, Clancy RL. Biomarkers: An Important Clinical Assessment Tool. *AJN* 2012; **112**: 52-58.
43. Chatkin JM, Ansarin K, Silkoff PE, McClean P, Gutierrez C, Zamel N, et al. Exhaled nitric oxide as a noninvasive assessment of chronic cough. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; **159**: 1810-1813.
44. Kelso JM. Does a single measurement of exhaled nitric oxide predict asthma exacerbations? *Pediatrics* 2012; **130**: 31.
45. Attur MG, Tomita K, Meah S, Vyas P, Levartovsky D, Patel P, et al. Differential anti-inflammatory effects of immunosuppressive drugs: Cyclosporin, rapamycin and FK-506 on inducible niyric oxide synthase, nitric oxide, cyclooxygenase-2 and PGE2 production. *Inflam Res* 2000; **49**: 20-26.
46. Ansarin K, Zamel N, Chapman KR. Exhaled hydrogen peroxide in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Chest* 1998; **114**: 361
47. Nagaraja C, Shashibhushan BL, Sagar, Asif M, Manjunath PH. Hydrogen peroxide in exhaled breath condensate: A clinical syudy. *Lung India* 2012; **29**: 123-127.
48. Corradi M, Rubinstein I, Andreoli R, Manini P, Caglieri A, Poli D, et al. Aldehydes in exhaled breath condensate of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; **167**: 1380-1386.
49. Firoozrai M, Sarasgani M, Hesabi B, Bandegi A. Effect of sports on the reduction of cell membtane susceptibility antioxidant defense and oxidative stress. *Iran J Med Sci* 2007; **125**(56): 1-12.
50. Bartoli ML, Novelli F, Costa F, Malagrino L, Melosini E, Bacci E, et al. Malondialdehyde in exhaled breath condensate as a marker of oxidative stress in different pulmonary diseases. *Mediators Inflam* 2011; Article No. 891752.
51. Antczak A, Nowak D, Shariati R, Krol M, Piasecka G, Kurmanowska K. Increased hydrogen peroxide and thiobarbituric acid-reactive products in expired breath condensate of asthmatic patients. *Eur Respir J* 1997; **10**: 1235-1241.
52. Scheepers PTJ, Konings J, Demierl G, Gaga EO, Anzion R, PeerP GM, et al. Determination of exposure to benzene, toluene and xylenes in Turkish primary school children by analysis of breath and by environmental passive sampling. *Sci Tot Environ* 2010; **408**: 4863-4870.
53. Poli D, Goldoni M, Caglieri A, Ceresa G, Acampa O, Carbognani P, et al. Breath analysis in non small cell lung cancer patients after surgical tumour resection. *Acta Biomed* 2008; **79**: 64-72.
54. Moretti M, Phillips M, Abouzied A, Cataneo RN, Greenberg J. Increased breath markers of oxidative stress in normal pregnancy and in preeclampsia. *J Obestetr Gynecol* 2004; **190**: 1184-1190.
55. Grob NM, Aytekin M, Dweik, RA. Biomarkers in exhaled breath condensate: a review of collection, processing and analysis. *J Breath Res* 2008; 037004.
56. Almstrand AC, Liungstrom E, Lausmaa J, Bake B, Sjovall P, Olin AC. Airway monitoring by collection and mass spectrometric analysis of exhaled particles. *Anal Chem* 2009; **81**: 662-668.
57. Kinter M. Analytical technologies for lipid oxidation products analysis . *J Chromatogr B* 1995; **671**(1-2): 223-236.
58. Brussino L, Badiu I, Sciascia S, Bugiani M, Heffler E, Guida G, et al. Oxidative stress and airway inflammation after allergen challenge evaluated by exhaled breath condensate analysis. *Clin Exp Allergy* 2010; **40**: 1642–1647.