



## Relationship of baking types with DNA damage in blood lymphocytes of bakery workers

**Mojtaba Kianmehr**, Department of Medical Physics, Faculty of Medicine, Professor of Biophysics, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran.

**Jafar Hajavi**, (\*Corresponding author), Department of para-medicine, Faculty of Allied Medicine, Assistant Professor of Immunology, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran. [hajavi.jaf@gmail.com](mailto:hajavi.jaf@gmail.com)

### Abstract

**Background and aims:** Exposure to smoke from different fuels leads to damage of DNA and ultimately results to various cancers. To measure these damages, the comet assay is used broadly. Comet assay is widely used for screening and identifying the genotoxic effects of various substances in humans at work or in their environment. The purpose of this study has been to assess the DNA damage in bakery worker lymphocytes according to different baking in compare to control people by using the comet assay.

**Methods:** In this cross-sectional study, Forty-four baker including 11 people in each of the three groups of different types of Sangaks and Machine and Traditional baking with the same type of gas fuel and 11 controls were studied. For this purpose, after obtaining the consent of the selected individuals, 5 ml of blood was obtained and after examining percentage of viability using trypan blue dye, The Analysis of Peripheral blood lymphocyte was done by comet assay to assessment DNA damage degree in terms of tail length ( $\mu\text{m}$ ), tail DNA (%) and tail moment ( $\mu\text{m}$ ).

**Results:** The amounts of DNA damage in the peripheral blood lymphocytes of all bakers were significantly higher than the control group. Baker in traditional and Sangaks baking trays showed greater damage compared to kind of Machine baking, so that tail lengths for traditional bakers were  $18.70 \pm 9.70$ ,  $16.33 \pm 7.44$  (for Sangaks baking),  $10.56 \pm 6.20$  (for Machine baking) versus control group  $4.05 \pm 1.97$ .

**Conclusion:** The smoke from fuel used in baking, Because of their mutagenic properties, can lead to increased DNA damage in baker's lymphocytes that was higher in traditional baking type. Furthermore, amount of DNA damage increased by work history increases.

**Conflicts of interest:** None

**Funding:** None

### Keywords

DNA damage

Lymphocytes

Comet assay

Baker

Baking type

Received: 2019-03-03

Accepted : 2020-07-08

### How to cite this article:

Mojtaba Kianmehr, Jafar Hajavi. Relationship of baking types with DNA damage in blood lymphocytes of bakery workers. Iran Occupational Health. 2020 (30 Dec);17:79.

\*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence



## ارتباط نوع پخت با میزان آسیب DNA در لنفوسیت‌های خون محیطی افراد شاغل در نانوايي

**مجتبی کیان‌مهر:** دپارتمان فیزیک پزشکی، هیئت علمی، استاد بیوفیزیک، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران.  
**جعفر حاجوی:** (\* نویسنده مسئول) دپارتمان پیراپزشکی، هیئت علمی، استادیار ایمنی‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران. hajavi.jaf@gmail.com

### چکیده

#### کلیدواژه‌ها

آسیب DNA

لنفوسیت

آزمون کامت

نانوا

نوع پخت

**زمینه و هدف:** قرارگیری در معرض دود ناشی از سوخت منجر به ایجاد آسیب DNA و در نهایت زمینه‌ساز سرطان‌های مختلف می‌شود. برای سنجش این آسیب‌ها از آزمون کامت (Comet assay) استفاده می‌شود. آزمون کامت به‌وفور برای غربالگری و شناسایی اثرات ژنوتوکسیک مواد مختلف در انسان‌ها در محل کار یا محیطشان مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این مطالعه، ارزیابی آسیب DNA لنفوسیت‌های خون محیطی افراد شاغل در نانوايي‌ها با توجه به نوع پخت در مقایسه با افراد کنترل بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه مقطعی، ۴۴ مرد شامل ۱۱ نفر در هریک از سه گروه نوع پخت مختلف سنگک، ماشینی و تنوری سنتی با نوع سوخت یکسان گاز شهری و ۱۱ نفر گروه کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند. برای این منظور، بعد از کسب رضایت از افراد انتخاب‌شده، به مقدار ۵ سی‌سی خون گرفته شد و پس از بررسی لنفوسیت‌ها از نظر درصد زنده بودن با استفاده از رنگ تریپان بلو، آنالیز لنفوسیت‌های خون محیطی این افراد برای بررسی میزان آسیب DNA از نظر طول دم (میکرومتر)، درصد DNA در دم و اندازه حرکت دم (میکرومتر) با استفاده از نرم‌افزار comet score انجام شد.

**یافته‌ها:** مقدار آسیب DNA لنفوسیت‌های خون محیطی همه نانواها به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود. نانواهایی که از نوع پخت تنوری سنتی و سنگک استفاده می‌کردند، آسیب بیشتری را در مقایسه با نانوايان استفاده‌کننده از پخت ماشینی نشان دادند؛ به‌طوری که طول دم در نانوايان با پخت تنوری سنتی  $18/70 \pm 9/32$ ، سنگک  $16/33 \pm 7/77$  و ماشینی  $10/56 \pm 6/20$  نسبت به گروه کنترل  $4/05 \pm 1/97$  بود.

**نتیجه‌گیری:** دود ناشی از سوخت مورد استفاده در نانوايي به‌دلیل داشتن ترکیبات جهش‌زا، منجر به آسیب DNA در لنفوسیت‌های خون محیطی نانوايان می‌شود که میزان آسیب در نوع پخت تنوری سنتی بیشتر است. همچنین با افزایش سابقه کار، میزان آسیب DNA فزونی می‌یابد.

**تعارض منافع:** گزارش نشده است.

**منبع حمایت‌کننده:** معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گناباد.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۱۸

شیوه استناد به این مقاله:

Mojtaba Kianmehr, Jafar Hajavi. Relationship of baking types with DNA damage in blood lymphocytes of bakery workers. Iran Occupational Health. 2020 (30 Dec);17:79.

\*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است

## مقدمه

عوامل ژنوتوکسیک فیزیکی و شیمیایی موجود در محیط زندگی و کار سبب ایجاد انواع آسیب DNA از جمله شکستگی رشته DNA می‌شود که این شکست‌ها زمینه انواع جهش‌های ایجادکننده بیماری‌های مختلف از جمله سرطان را فراهم می‌آورد. (۲-۱) مواد شیمیایی مختلف، آلاینده‌های محیطی، دود ناشی از سوخت‌های مختلف و اشعه باعث افزایش میزان آسیب DNA می‌شود. (۵-۳) آسیب DNA در ایجاد سرطان نقش مهمی دارد و عمده سرطان‌های انسانی با ناپایداری DNA مرتبط است. (۷-۶) یکی از نشانه‌های اولیه بیماری‌های ژنتیکی و سرطان در انسان، افزایش میزان آسیب DNA است. (۸)

امروزه آزمون کامت به‌عنوان یکی از روش‌های استاندارد برای ارزیابی آسیب DNA در موارد غربالگری انسانی و اپیدمیولوژی مولکولی، آسیب‌های بیولوژیکی ناشی از سبک زندگی و فاکتورهای محیطی و شغلی (۹) و همچنین پژوهش‌های بنیادی در آسیب و ترمیم DNA در *in vitro* و *in vivo* مورد استفاده قرار می‌گیرد. (۱۱-۱۰) آزمون کامت به‌دلیل حساسیت بالا و کاربرد آسان آن در مطالعات انسانی، برای اندازه‌گیری آسیب DNA در لنفوسیت‌های خون محیطی به‌عنوان بیومارکر ژنتیکی ارزیابی خطر سرطان کاربرد دارد (۲، ۹، ۱۲-۱۳) کارگران به‌واسطه شغلشان، در معرض انواع عوامل آسیب‌رسان به DNA هستند که میزان این مواجهه به محل کار، مدت زمان کار و میزان وسایل محافظ مورد استفاده توسط هر فرد بستگی دارد. علاوه بر این، فاکتورهای مرتبط با سبک زندگی مانند استعمال دخانیات و الکل نیز بر میزان آسیب DNA مؤثر است. (۱۴-۱۶)

امروزه از گاز شهری به‌عنوان گاز مناسب، ارزان‌قیمت و در دسترس جهت پخت‌وپز، و نیز سوخت اصلی در شهرها استفاده می‌شود. براساس گزارش مؤسسه بررسی سلامت تنفسی جامعه اروپا،<sup>۱</sup> گاز به‌منظور پخت‌وپز به میزان متغیر و فراوانی، از ۱۰٪ در سوئد تا ۹۰٪ در نیوزلند مورد استفاده قرار می‌گیرد. (۱۷) گاز شهری عمدتاً از متان تشکیل شده است و واکنش سوختن کامل آن منجر به تولید یک مولکول دی‌اکسید کربن، دو مولکول بخار آب و گرما می‌شود. (۱۸)

نانوایان تعداد زیادی از نیروی کار را در جامعه تشکیل می‌دهند که جهت رفاه عموم در همه نقاط ایران حضور دارند. طبق آیین‌نامه وزارت بازرگانی، باید برای حداقل ۶۰۰ نفر و حداکثر ۱۲۰۰ نفر در هر منطقه، یک نانوایی

ایجاد شود که در حال حاضر به‌طور متوسط به‌ازای هر ۸۰۰ نفر، یک نانوایی وجود دارد. در شهرستان گناباد تعداد ۹۶ نانوایی شناسنامه‌دار (براساس آمار فرمانداری شهرستان) دایر بوده که مشغول خدمت‌رسانی به شهروندان هستند. (۱۹) قرارگیری نانوایان در معرض سطوح بالای آلاینده‌های خطرناک هوا که ناشی از سوخت گاز شهری است، اغلب به فراموشی سپرده می‌شود. ضمناً میزان در معرض بودن این افراد در نانوایی‌های با نوع پخت متفاوت یکسان نیست. (۲۰-۲۱) به‌دلیل فضای بسته و تهویه نامناسب محیط نانوایی، نانوایان در تماس مستقیم و طولانی‌مدت با دود و بخارات منتشرشده ناشی از سوخت دستگاه پخت قرار می‌گیرند و این مواد از طریق استنشاق، پوست و چشم‌ها وارد بدن آن‌ها می‌گردد و DNA سلول‌های آن‌ها در معرض آسیب قرار می‌گیرد. تاکنون مطالعه‌ای در بین نانوایان برای سنجش آسیب DNA ناشی از سوخت گاز شهری و انواع پخت مورد استفاده انجام نشده است و این پژوهش برای مقایسه آسیب ناشی از سوخت گاز شهری با توجه به انواع پخت و مقایسه آن با افراد سالم انجام شده است.

## روش بررسی

### مواد

مواد شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه شامل آگاروز با نقطه ذوب نرمال<sup>۲</sup> و نقطه ذوب کم<sup>۳</sup> و همچنین اتیديوم بروماید از شرکت Boehringer Mannheim خریداری گردید. بقیه مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک تهیه شد.

## روش بررسی

در این مطالعه مقطعی، جامعه مورد مطالعه نانوایان مرد شاغل در نانوایی‌های با سوخت گاز شهری در شهرستان گناباد بودند. معیارهای ورود به مطالعه عبارت بود از: از لحاظ معاینه پزشکی سالم باشد، جهت شرکت در پژوهش رضایت داشته باشد، استعمال دخانیات یا الکل نداشته باشد، سابقه بیماری ژنتیکی مشخص که منجر به آسیب DNA می‌شود نداشته باشد، حداقل ۱ سال سابقه کار در نانوایی داشته باشد، شاطر یا نان‌درآور باشد و هم‌زمان در ۲ نوع نانوایی فعالیت نداشته باشد. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بود از: از لحاظ پزشکی ادامه مشارکت در پژوهش برای وی میسر نباشد و یا نسبت به ادامه تحقیق رضایت نداشته باشد. نمونه‌گیری به روش تصادفی ساده انجام شد. نمونه‌ها از فهرست نانوایان که در اتحادیه

2 . Normal Melting Point

3 . Low Melting Point

1 . European Community Respiratory Health Survey

شد. بعد از سفت شدن ژل، اسلایدها به محلول لیزکننده (2.5 M NaCl, 100 mM Na<sub>2</sub>EDTA, 10 mM Tris) با pH=10 که ۱۰٪ DMSO و ۱٪ Triton X-100 به آن اضافه شده بود، در دمای ۴ درجه سلسیوس منتقل و در تاریکی به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس اسلایدها جهت الکتروفورز در تانک الکتروفورز افقی قرار گرفته و تانک تا سطح روی اسلایدها با بافر تازه شامل ۱ mM Na<sub>2</sub>EDTA، ۳۰۰ mM NaOH با pH < ۱۳ پوشانده شد تا در مدت زمان ۲۰ دقیقه فرصت کافی برای از بین رفتن پیوندهای هیدروژنی و جدا شدن دو رشته DNA ایجاد شود. در ادامه جریان الکتریکی با ولتاژ ۶۵ V/cm و شدت جریان الکتریکی ۲۹۰ mA برای مدت ۲۰ دقیقه به منظور حرکت قطعات DNA آسیب دیده به سمت آند برقرار گردید. به منظور جلوگیری از تأثیر نور مرئی بر DNA برهنه، همه مراحل در تاریکی انجام و حتی تانک الکتروفورز با فویل آلومینیومی پوشانده شد. بعد از الکتروفورز، اسلایدها آبکشی شده، ۱۵ دقیقه در بافر خنثی کننده M4 / Tris با pH= ۷/۵ قرار داده و با متانول فیکس و با اتیدیوم بروماید ۲۰ mg/mL به مدت ۵ دقیقه رنگ آمیزی شدند. سپس اسلایدها با میکروسکوپ فلورسنت (Nikon 50i) با بزرگ‌نمایی ۲۰۰x با طول موج ۵۱۰-۵۶۰ نانومتر ناشی از لامپ جیوه ۱۰۰ وات و همچنین فیلتر Barrier با طول موج ۵۹۰ نانومتر، مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی اسلایدها به صورت کدگذاری شده و کور شده صورت گرفت. دو اسلاید برای هر نمونه تهیه گردید و ۵۰ هسته در هر اسلاید یعنی ۱۰۰ هسته برای هر نمونه و در مجموع ۴۴۰۰ هسته (۳۳۰۰ هسته برای گروه مطالعه و ۱۱۰۰ هسته برای گروه کنترل) با نرم‌افزار CometScore Version ۱/۵ مورد بررسی قرار گرفتند. آسیب‌های DNA مورد بررسی شامل tail length, percent tail DNA, tail moment بود. (۲۳، ۱۰-۹)

جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها در هر یک از ۴ گروه، از آزمون شاپیرو ویک استفاده شد. با توجه به توزیع نرمال داده‌ها، آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای بررسی متغیرهای کمی (سن، وزن، قد، شاخص توده بدنی، فشارخون، سابقه کار، ساعت کاری روزانه، طول دم، درصد DNA در دم و میزان اندازه حرکت دم) مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۴) در سطح معناداری ۰/۰۵ < p انجام شد.

### یافته‌ها

هریک از ۴ گروه شامل ۱۱ مرد بود. میانگین سن، سابقه

نانوهای شهرستان موجود بود، به طور تصادفی انتخاب شدند و هر یک که ملاک‌های ورود به مطالعه را داشتند، وارد مطالعه شدند. از نمونه‌گیری ساده و سیستماتیک استفاده شد. در هر مورد تعداد نانوایان بر حجم نمونه لازم تقسیم گردید و برای مثال برای نانوایی سنگگ، عدد ۴ به دست آمد. بین عدد ۱ تا ۴ با روش تصادفی ساده، یک عدد مشخص شد (مثلاً ۳) و سپس با روش نمونه‌گیری سیستماتیک، نفر دوم ۷، نفر سوم ۱۱ و تا آخر مشخص شد. از ابتدا مقرر گردید هر نفری که انتخاب شد اگر شرایط لازم را نداشت، نفر بعدی موجود در فهرست، جایگزین گردد. گروه کنترل هم از افراد سالم غیرنانوا (کارمندان بخش‌های اداری دانشگاه) که از لحاظ سنی، جنس و سایر متغیرهای زمینه‌ای شبیه گروه مورد مطالعه بودند، به طور تصادفی انتخاب شدند. ابتدا فرم رضایت جهت شرکت در پژوهش و فرم مشخصات دموگرافیک تکمیل و سپس خون‌گیری از آن‌ها انجام شد. حجم نمونه پس از انجام مطالعه پایلوت و با استفاده از فرمول تعیین حجم نمونه بر اساس اختلاف میانگین‌ها در دو جامعه مستقل، محاسبه شد. ضریب اطمینان ۹۵٪ (z=۱/۹۶) و توان آزمون ۸۰٪ (z=۰/۸۴) در نظر گرفته شد. آسیب DNA در ۵ نفر از گروه شاهد و ۵ نفر از نانوایان تعیین شد (۵/۷±۲/۳ میکرومتر در گروه کنترل نسبت به ۱۱/۶±۹/۲ میکرومتر در گروه نانوایان). با استفاده از داده‌های به دست آمده و طبق فرمول زیر، حجم نمونه نهایی محاسبه شد.

$$n = \frac{(s_1^2 + s_2^2)(z_{1-\frac{\alpha}{2}} + z_{1-\beta})^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

حجم نمونه در این تحقیق برای هر گروه حدود ۹ نفر به دست آمد که با در نظر گرفتن ۲۰٪ افت نمونه، حجم هر گروه ۱۱ نفر برای هر یک از ۳ نوع روش پخت سنگگ، ماشینی و تنوری سنتی تعیین گردید و ۱۱ نفر نیز به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند که در مجموع ۴۴ نفر مورد ارزیابی قرار گرفتند.

بعد از خون‌گیری از افراد، جداسازی لنفوسیت‌ها از خون کامل انجام گردید و قبل از انجام آزمون کامت، میزان زنده بودن سلول‌ها به وسیله رنگ تریپان بلو تعیین گردید که مشخص شد بیش از ۹۶٪ لنفوسیت‌های جدا شده زنده بوده و برای ادامه آزمایش مناسب هستند. برای تعیین میزان آسیب DNA در لنفوسیت‌های خون محیطی نانوایان، از آزمون کامت قلبیایی استفاده شد که روش کار آن مطابق با روش سینگ و همکاران، با اندکی تغییرات بود. (۲، ۲۲-۲۳) سپس ژل حاوی سلول‌ها آماده

## بحث

در این مطالعه مقطعی، ۴۴ مرد شامل ۱۱ نفر در هر یک از سه گروه نوع پخت مختلف سنگک، ماشینی، تنوری سنتی (با نوع سوخت یکسان گاز شهری) و ۱۱ نفر گروه کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند. مقدار آسیب DNA لنفوسیت‌های خون محیطی همه نانواها به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود؛ به طوری که طول دم در نانویان با پخت تنوری سنتی  $۱۸/۷۰ \pm ۹/۳۲$ ، سنگک  $۱۶/۳۳ \pm ۷/۷۷$  و ماشینی  $۱۰/۵۶ \pm ۶/۲۰$  نسبت به گروه کنترل  $۴/۰۵ \pm ۱/۹۷$  بود.

آزمون کامت در مقایسه با روش‌های سیتوژنتیک، علاوه بر آسانی، یک تست سریع و حساس برای اندازه‌گیری آسیب‌های DNA ناشی از قرارگیری در معرض مواد سرطان‌زای محیطی و شغلی است. (۲۴) با توجه به عدم

کاری، ساعات کار روزانه، قد، وزن، شاخص توده بدنی و فشارخون سیستولیک و دیاستولیک نانویان به تفکیک نوع پخت و گروه کنترل در جدول ۱ آورده شده است. پارامترهای آسیب DNA مورد سنجش در گروه‌های مورد مطالعه و کنترل در جدول ۲ آمده است. همه پارامترها نشان از وجود ارتباط بین آسیب DNA در نانویان و نوع پخت دارد.

ارتباط بین پارامترهای آسیب DNA و سابقه کاری با استفاده از ضریب هم‌بستگی پیرسون در جدول ۳ نشان داده شده است.

مطابق جدول ۳ ارتباط خطی مستقیم معناداری بین شدت آسیب DNA و مدت زمان در معرض قرار گرفتن نانویان در معرض دود ناشی از سوخت در نانویی‌های با نوع پخت مختلف وجود دارد ( $P < ۰/۰۵$ ).

جدول ۱- مشخصات دموگرافیک افراد نانو و گروه کنترل (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

نام متغیر	کنترل	سنگک	ماشینی	تنوری سنتی	p-value
سن (سال)	$۳۴/۷۰ \pm ۱۲/۱۵$	$۳۸/۲۰ \pm ۱۰/۲۰$	$۳۶/۳۷ \pm ۱۵/۱۱$	$۳۶/۴۰ \pm ۱۲/۰۸$	۰/۹۴۱
سابقه کار نانویی (سال)	۰	$۱۵/۴۰ \pm ۷/۴۷$	$۱۴/۴۰ \pm ۹/۸۷$	$۱۲/۱۰ \pm ۷/۴۳$	۰/۶۶۷
ساعت کار روزانه نانویی	۰	$۷/۶۰ \pm ۰/۸۴$	$۸/۰۰ \pm ۱/۸۸$	$۷/۰۰ \pm ۱/۰۵$	۰/۲۶۱
وزن (کیلوگرم)	$۷۶/۲۰ \pm ۱۲/۰۷$	$۷۵/۶۰ \pm ۱۰/۳۰$	$۷۸/۶۵ \pm ۱۲/۷۷$	$۷۰/۸۵ \pm ۸/۳۰$	۰/۴۶۱
قد (سانتی‌متر)	$۱۷۳/۳۰ \pm ۷/۲۰$	$۱۷۰/۹۵ \pm ۷/۴۶$	$۱۷۳/۳۰ \pm ۵/۱۰$	$۱۷۰/۳۵ \pm ۷/۷۶$	۰/۷۰۰
شاخص توده بدنی ( $\text{kg/m}^2$ )	$۲۵/۴۴ \pm ۳/۹۵$	$۲۵/۸۵ \pm ۳/۱۱$	$۲۶/۱۷ \pm ۴/۰۲$	$۲۴/۴۸ \pm ۳/۰۸$	۰/۷۳۸
فشار سیستولیک (mmHg)	$۱۲۱/۵ \pm ۷/۴$	$۱۲۱/۵ \pm ۱۰/۸$	$۱۲۰/۵ \pm ۱۲/۱$	$۱۱۶/۰ \pm ۱۵/۰$	۰/۶۷۱
فشار دیاستولیک (mmHg)	$۸۰/۰ \pm ۸/۱$	$۷۷/۰ \pm ۵/۳$	$۷۸/۰ \pm ۷/۸$	$۷۷/۰ \pm ۸/۲$	۰/۷۸۶
عادت غذایی	معمولی	معمولی	معمولی	معمولی	-
مصرف سیگاری	غیرسیگاری	غیرسیگاری	غیرسیگاری	غیرسیگاری	-
مصرف الکل	غیرمصرف‌کننده	غیرمصرف‌کننده	غیرمصرف‌کننده	غیرمصرف‌کننده	-

جدول ۲- مقایسه پارامترهای آسیب DNA در لنفوسیت‌های افراد مورد مطالعه (انحراف معیار  $\pm$  میانگین)

گروه	طول دم (میکرومتر)	درصد DNA در دم	اندازه حرکت دم (میکرومتر)
کنترل	$۴/۰۵ \pm ۱/۹۷$	$۱/۷۵ \pm ۰/۷۹$	$۰/۳۷ \pm ۰/۴۳$
سنگک	$۱۶/۳۳ \pm ۷/۴۴$	$۵/۶۶ \pm ۲/۶۱$	$۳/۴۵ \pm ۳/۲۱$
ماشینی	$۱۰/۵۶ \pm ۶/۲۰$	$۳/۷۲ \pm ۱/۹۵$	$۱/۵۲ \pm ۱/۴۸$
تنوری سنتی	$۱۸/۷۰ \pm ۹/۳۲$	$۶/۷۰ \pm ۳/۴۰$	$۴/۳۶ \pm ۴/۰۰$
پارامترهای آماری	$F=۹/۲۵,$ $P<۰/۰۰۱$	$F=۸/۳۴,$ $P<۰/۰۰۱$	$F=۴/۵۶,$ $P=۰/۰۰۸$

جدول ۳- ارتباط بین پارامترهای آسیب DNA در لنفوسیت‌های نانوایان با سابقه کار آنان

نوع پخت	پارامتر آماری	طول دم ( $\mu\text{m}$ )	درصد DNA دم	اندازه حرکت دم ( $\mu\text{m}$ )
تنوری سنتی	r	۰/۸۹۶	۰/۸۶۷	۰/۸۸۵
	p	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
سنگگ	r	۰/۸۵۴	۰/۶۲۴	۰/۸۲۱
	p	۰/۰۰۲	۰/۰۴۴	۰/۰۰۴
ماشینی	r	۰/۷۷۴	۰/۶۰۹	۰/۵۴۴
	p	۰/۰۰۹	۰/۰۴۲	۰/۰۴۸

هم اختلاف معناداری بین آسیب DNA نانوایان شاغل در نانوایی با پخت تنوری سنتی نسبت به بقیه گروه‌ها وجود داشت. در تحقیقی که کومار و همکاران بر روی زنان خانه‌دار روستایی در هند که از سوخت چوب در پخت تنوری سنتی استفاده می‌کردند انجام دادند (۲۹)، مشابه با نتایج این مطالعه، مشخص گردید که درصد DNA در دم، در آن‌ها نسبت به افراد گروه کنترل افزایش معناداری داشته است (۱۸/۷۰ در مقابل ۴/۰۵). در مطالعه پیش‌رو نیز بیشترین آسیب در نانوایان تنوری سنتی ایجاد شد؛ به طوری که درصد DNA در دم در گروه نانوایان تنوری سنتی نسبت به گروه کنترل ۳/۸ برابر بیشتر بود (۶/۷۰ در مقابل ۱/۷۵). در نوع پخت سنگگ و ماشینی هرچند درصد DNA در دم نسبت به گروه پخت تنوری سنتی کمتر بود (به ترتیب ۵/۶۶ و ۳/۷۲)، نسبت به گروه کنترل افزایش آسیب ۳/۲ و ۲/۱ برابری را نشان داد.

مطالعه مشابه انجام شده بر روی تأثیر سوخت جت نشان داد که غلظت بیشتر سوخت و مدت زمان بیشتر قرارگیری در معرض سوخت، باعث افزایش آسیب DNA می‌شود. (۳۰-۳۱) تحقیق حاضر هم نشان‌دهنده تأثیر سابقه کار و مدت زمان قرارگیری در معرض دود ناشی از سوخت بود؛ به گونه‌ای که با افزایش مدت زمان قرارگیری و سابقه کار، میزان آسیب بیشتر می‌شود. در مجموع اغلب مطالعات در مورد بررسی تأثیر سوخت مورد استفاده برای پخت‌وپز نشان داده است که افراد در معرض مواد ژنوتوکسیک متنوع و فراوان هستند. توجه به وسایل محافظتی در محیط کار، سیستم تهویه مناسب، نوع برنامه غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان‌ها و مدت زمان کار در نانوایان مهم بوده و می‌تواند منجر به کاهش آسیب DNA گردد.

محدودیت این مطالعه ماهیت مقطعی آن و نیز عدم امکان خون‌گیری در قبل از نانو شدن و پس از آن بود که امکان نتیجه‌گیری‌های علت و معلولی را نمی‌دهد و

رعایت شرایط بهینه پخت‌وپز، فقدان آگاهی از عوامل خطر موجود و از همه مهم‌تر اطلاعات ناقص و کم در مورد فرایندهای حفاظتی، افراد در معرض مواد ژنوتوکسیک به‌ویژه مواد آلاینده موجود در هوا قرار می‌گیرند. نتایج این تحقیق نشان داد دود ناشی از سوخت مورد استفاده در نانوایی‌ها موجب آسیب DNA در لنفوسیت‌های نانوایان می‌شود. گفتنی است که میزان آسیب در نوع پخت تنوری سنتی بیشتر بود.

دود ناشی از سوخت مورد استفاده نانوایی‌ها حاوی موادی مانند مونواکسید کربن، اکسید نیتروژن و ذرات فوق‌العاده ریز است که نانوایان تماس مستقیم با آن‌ها دارند. این موارد از راه‌های مختلف وارد بدن نانوایان شده، باعث قرارگیری DNA آن‌ها در معرض آسیب می‌شود. مطالعات مختلفی میزان آسیب DNA را در افراد قرارگرفته در معرض عوامل ژنوتوکسیک ناشی از شغل ارزیابی کرده‌اند. (۲۵-۲۶) براساس نتایج آزمون کامت قلیایی در مطالعه حاضر، همه نانوایان با روش‌های پخت متفاوت، آسیب بیشتری در DNA لنفوسیت‌های خون محیطی خود نسبت به گروه کنترل نشان دادند. به احتمال زیاد این افزایش آسیب ناشی از دود حاصل از سوخت در هنگام پخت نان در محیط بسته و تهویه نامناسب است.

آملی تحقیقی درباره زنان روستایی خانه‌دار مسن ایرانی که روزانه ۳ تا ۴ ساعت در معرض دود ناشی از پخت نان محلی بودند، انجام داد و دریافت که دود در ایجاد ناراحتی‌های دستگاه تنفسی نقش مهمی داشته است. (۲۷) در مطالعه پانندی و همکاران بر روی زنان خانه‌دار روستایی ۲۰ تا ۵۴ ساله در هند نشان داده شد آسیب DNA معناداری بیشتری در افراد استفاده‌کننده از چوب در پخت تنوری سنتی، نسبت به افراد کنترل، وجود دارد. همچنین مقدار آسیب با افزایش زمان در معرض بودن افزایش معناداری پیدا کرده بود. (۲۸) در پژوهش حاضر

- B, El Ghissassi F, et al. A review of human carcinogens-part C: metals, arsenic, dusts, and fibres. *J The lancet oncology*. 2009; 10(5): 453-4.
9. Frenzilli G, Nigro M, Lyons BP. The Comet assay for the evaluation of genotoxic impact in aquatic environments. *Mutation research*. 2009; 681(1): 80-92.
10. Collins AR. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Molecular biotechnology*. 2004; 26(3): 249-61.
11. Speit G, Witton-Davies T, Heepchantree W, Trenz K, Hoffmann H. Investigations on the effect of cigarette smoking in the comet assay. *Mutation research*. 2003; 542(1-2): 33-42.
12. Collins A, Koppen G, Valdiglesias V, Dusinska M, Kruszewski M, Moller P, et al. The comet assay as a tool for human biomonitoring studies: The ComNet Project. *Mutat Res-Rev Mutat*. 2014; 759: 27-39.
13. Wild CP. Environmental exposure measurement in cancer epidemiology. *J Mutagenesis*. 2008; 24(2): 117-25.
14. Faust F, Kassie F, Knasmüller S, Boedecker RH, Mann M, Mersch-Sundermann V. The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. *J Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2004; 566(3): 209-29.
15. Kianmehr M, Hajavi J, Gazeri J. Assessment of DNA damage in blood lymphocytes of bakery workers by comet assay. *Toxicology and industrial health*. 2017; 33(9): 726-35.
16. Roma-Torres J, Teixeira JP, Silva S, Laffon B, Cunha LM, Mendez J, et al. Evaluation of genotoxicity in a group of workers from a petroleum refinery aromatics plant. *Mutation research*. 2006; 604(1-2): 19-27.
17. Casas L, Tischer C, Tiesler C, Bruske I, Koletzko S, Bauer CP, et al. Association of gas cooking with children's respiratory health: results from GINIplus and LISApplus birth cohort studies. *Indoor Air*. 2012; 22(6): 476-82.
18. Di Pascoli S, Femia A, Luzzati T. Natural gas, cars and the environment. A (relatively) clean and cheap fuel looking for users. *J Ecological Economics*. 2001; 38(2): 179-89.
19. Governorate of Gonabad, Bakeries in Gonabad city according to their fuel types; 2015.
20. Nemmar A, Hoet PM, Vanquickenborne B, Dinsdale D, Thomeer M, Hoylaerts M, et al. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans. *J Circulation*. 2002; 105(4): 411-4.
21. Sinha D, Ray MR. Health effects of indoor air pollution due to cooking with biomass fuel. *Studies on Experimental Toxicology and Pharmacology*: Springer; 2015: 267-302.
22. Moller P. Assessment of reference values for DNA damage detected by the comet assay in human blood

یافته‌های به‌دست‌آمده باید در مطالعات آینده‌نگر تأیید شود.

### نتیجه‌گیری

دود ناشی از سوخت مورد استفاده در نانوائی‌ها به‌دلیل ایجاد مواد آلاینده خطرناک منجر به آسیب DNA در لنفوسیت‌های خون محیطی نانوائیان می‌شود. میزان آسیب در نوع پخت تنوری سنتی بیشتر از سایر روش‌های متفاوت پخت نان بود. همچنین با افزایش سابقه کار، میزان آسیب DNA بیشتر می‌شود.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گناباد انجام شد و دارای کد اخلاق ۹۰/۴/۳۹۵ است. همچنین نویسندگان مراتب قدردانی خود را از اتحادیه نانوائیان شهرستان گناباد و نانوائیان محترم و همچنین گروه کنترل برای همکاری در این مطالعه اعلام می‌کنند.

### References

1. Everatt R, Slapsyte G, Mierauskiene J, Dedonyte V, Bakiene L. Biomonitoring Study of Dry Cleaning Workers Using Cytogenetic Tests and the Comet Assay. *J Occup Environ Hyg*. 2013; 10(11): 609-21.
2. Kassie F, Parzefall W, Knasmüller S. Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies. *Mutat Res-Rev Mutat*. 2000; 463(1): 13-31.
3. Blackhall F, VT DeVita, S. Hellman, SA Rosenberg (eds.), *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. Elsevier; 2005.
4. Hartmann A, Herkommer K, Gluck M, Speit G. DNA-Damaging Effect of Cyclophosphamide on Human Blood-Cells in-Vivo and in-Vitro Studied with the Single-Cell Gel Test (Comet Assay). *Environ Mol Mutagen*. 1995; 25(3): 180-7.
5. Singh N, Graham M, Singh V, Khan A. Induction of DNA single-strand breaks in human lymphocytes by low doses of  $\gamma$ -rays. *J International journal of radiation biology*. 1995; 68(5): 563-9.
6. Binková B, Lewtas J, Mísková I, Rössner P, Cerná M, Mrácková G, et al. Biomarker studies in northern Bohemia. *J Environmental health perspectives*. 1996; 104(suppl 3): 591-7.
7. El Ghissassi F, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, Bouvard V, et al. A review of human carcinogens-part D: radiation. *J The lancet oncology*. 2009; 10(8): 751-2.
8. Straif K, Benbrahim-Tallaa L, Baan R, Grosse Y, Secretan

- housewives chronically exposed to indoor smoke. The European respiratory journal. 1998; 11(3): 659-63.
28. Pandey AK, Bajpayee M, Parmar D, Rastogi SK, Mathur N, Seth PK, et al. DNA damage in lymphocytes of rural Indian women exposed to biomass fuel smoke as assessed by the Comet assay. J Environmental molecular mutagenesis. 2005; 45(5): 435-41.
  29. Kumar R, Singh K, Nagar S, Kumar M, Mehto UK, Rai G, et al. Pollutant levels at cooking place and their association with respiratory symptoms in women in a rural area of Delhi-NCR. J Indian J Chest Dis Allied Sci. 2015; 57(4): 225-31.
  30. Grant GM, Jackman SM, Kolanko CJ, Stenger DA. JP-8 jet fuel-induced DNA damage in H4IIE rat hepatoma cells. Mutation research. 2001; 490(1): 67-75.
  31. Jackman SM, Grant GM, Kolanko CJ, Stenger DA, Nath J. DNA damage assessment by comet assay of human lymphocytes exposed to jet propulsion fuels. Environ Mol Mutagen. 2002; 40(1): 18-23.
  - cell DNA. Mutat Res-Rev Mutat. 2006; 612(2): 84-104.
  23. Singh RK, Mishra SK, Kumar N, Singh AK. Assessment of DNA damage by comet assay in lymphocytes of workers occupationally exposed to petroleum fumes. J International Journal of Genetics. 2010; 2(1): 18.
  24. Dusinska M, Collins AR. The comet assay in human biomonitoring: gene-environment interactions. Mutagenesis. 2008; 23(3): 191-205.
  25. Doukali H, Ben Salah G, Ben Rhouma B, Hajjaji M, Jaouadi A, Belguith-Mahfouth N, et al. Cytogenetic monitoring of hospital staff exposed to ionizing radiation: optimize protocol considering DNA repair genes variability. International journal of radiation biology. 2017; 93(11): 1283-8.
  26. Kianmehr M, Amiri M, Ebrahimzadeh-Bideskan A, Hajavi J. DNA damage assessment in the lymphocytes of construction painters by comet assay. J Toxicology industrial health. 2016; 32(11): 1902-9.
  27. Amoli K. Bronchopulmonary disease in Iranian