

Yoğunlaştırılmış Ekspirasyon Havası (YEH) Ölçümü ve Akciğer Sağlığı

Exhaled Breath Condensate (EBC) Measurement and Lung Health

Mehmet Polatlı

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Özet

Abstract

Biyolojik belirteçler solunumsal hastalıkların tanısı ve tedavisinin düzenlenmesinde olduğu kadar tedaviye yanıtın belirlenmesinde, rekürrens ve prognoz tayininde, ayrıca araştırmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Ekspiryum havasındaki gazların ölçülmesi, kolay ve tekrarlanabilir olmasına rağmen, çoğu enflamatuar mediatör uçucu değildir ve dışarı verilen havanın gaz fazında tespit edilemezler. Bronş biyopsisi, akciğer biyopsisi, bronkoalveoler lavaj gibi işlemler solunumsal hastalıkların tanısında rutin olarak kullanılırsa da, riskli hastaların erken dönemde belirlenmesi için uygulanabilirlikleri ve tekrarlanabilirlikleri zor invaziv girişimlerdir. Uçucu olmayan maddelerin konsantrasyonlarının tespit edilebildiği yöntemler başlıca uyarılmış balgam ve BAL ile sınırlı iken, yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası (YEH) solunum hastalıklarında havayolu inflamasyonunu noninvaziv şekilde değerlendirmede umut verici bir yöntem olarak ilgi gören bir konu haline gelmiştir. Son yıllarda, yoğunlaştırılmış ekspirasyon havasında çeşitli inflamatuvar mediatörler, oksidatif stres göstergeleri, ağır metal veya toksik metaller yanısıra genetik incelemelerin de yapıldığı giderek artan bir çok çalışma dikkat çekmektedir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Soluk testi, akciğer, enflamasyon, hava yolu, yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası (YEH)

Biological markers are commonly used in diagnosis, determination of the response to treatment or adjustment of treatment, determination of recurrence of the disease and prognosis, and also in respiratory medicine research. Determination of volatile substances in exhaled breath is simple and repeatable. However, most of the inflammatory mediators are not volatile and, therefore, are not detectable. Although some procedures, such as bronchial biopsy, lung biopsy, and bronchoalveolar lavage, are routinely used in respiratory medicine, their applicability and repeatability are difficult and they are invasive. The methods in which non-volatile substances were ascertained were limited by induced sputum and bronchoalveolar lavage. However, recently, exhaled breath condensate (EBC) analysis for non-invasive quantification of airway inflammation has become a potentially promising tool in respiratory diseases. Additionally, there is a growing interest in measuring different markers in exhaled breath condensate. An increasing number of studies on inflammatory mediators, oxidative stress indices, heavy or toxic metals, and genetic analysis in EBC have become available in the literature.

KEY WORDS: Breath test, lung, inflammation, airway, exhaled breath condensate (EBC)

Toksikoloji ve onkolojide daha sık kullanım alanı bulan, enflamasyonu doğrudan veya dolaylı olarak gösteren çeşitli biyolojik belirteçlerin, malign olmayan akciğer hastalıklarının takibinde kullanılmaları çalışmalarla sınırlı kalmış, rutin kullanıma girememiştir. Örneğin Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı'nın (KOAH) tanısı ve seyri akciğer fonksiyonundaki klinik bilgi ve değişikliklere, arteriyel kan gazlarına ve göğüs radyografilerine göre değerlendirilmektedir. Solunum yoluyla alınan bazı çevresel oksidan maddeler (sigara dumanı, ozon, nitrojen oksid gibi), allerjenler, viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, akciğer epitel yüzey sıvısının bileşiminde bulunan savunma elemanları ile (antioksidanlar, solubl belirteçler, bazı moleküller) etkileşirler. Bu alanda meydana gelen değişikliklerin takibi ile oksidatif hasar ve enflamasyonun şiddeti, tedavi etkinliği konusunda önemli ipuçları elde edilebilir. Kan ve/veya idrar örneklerinde belirteçlerin incelenmesi kolay ve tekrarlanabilir olmasına rağmen akciğerdeki olayları yansıtmada yeterli değildir. Elde edilecek materyaller için bronş biyopsisi, akciğer biyopsisi, bronkoalveoler lavaj (BAL) gibi invaziv yöntemlerin kullanılması, maruziyet düzeyini yansıtmada ve bazı olgularda hastalığın tanısında değerli olmakla beraber, özellikle ağır hastalarda ve çocuklarda uygulanmaları ve tekrarlanabilirlikleri zordur. Yarı invaziv olarak düşünülen uyarılmış balgam örnekleri de, akciğerlerde enflamatuar hücrelerin, mikroorganizmaların ve enflamatuar mediatörlerin varlığı hakkında bilgi sağlamakla birlikte, bu yöntemin uygulanması özellikle çocuklarda güçtür, zaman gerektirir ve ağız sekresyonları da örneğe karışabilir. Bir diğer dezavantajı, hipertonic solüsyonun bronko-konstrüksiyona, oksijen desatürasyonuna ve havayolu enflamasyonunda artışa yol açabilmesidir [1,2]. İnvaziv yöntemlerin kendilerine ait enflamasyon oluşturu etkileri, klinik ve epidemiyolojik araştırmalarda izlem amacıyla kullanılmalarını kısıtlamaktadır [3].



Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Mehmet Polatlı, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye Tel: +90 256 444 12 56 E-posta: mpolatli@adu.edu.tr

©Telif Hakkı 2013 Türk Toraks Derneği - Makale metnine www.toraks.dergisi.org web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2013 by Turkish Thoracic Society - Available online at www.toraks.dergisi.org

Tablo 1. YEH'de bakılabilecek önemli enflamatuar mediatör ve oksidatif stres göstergeleri

Belirteç	Özelliği	Bakılma yöntemi
Hidrojen peroksit	Hücreden salınan oksidan	Kalorimetrik veya florometrik yöntem
Nitrotirozin	Nitrosativ stres biyolojik belirteci	EIA, kütle spektrometri (MS)
Eikosanoidler	Araşidonik asid'ten elde edilen enflamatuar mediatörler	EIA, RIA, HPLC
8-izoprostan	Lipid peroksidasyon biyolojik belirteci	EIA ve gaz kromatografi/MS
Aldehitler	Lipid peroksidasyon biyolojik belirteci	Likid kromatografi, tandem (ardışık) kütle spektrometrisi
Glutasyon	Antioksidan	HPLC
pH	Havayolu asiditesi	pH elektrodları
Sitokinler	Enflamatuar mediatörler	EIA

Alternatif olarak, ekspiryum havasında nitrojen oksit (NO) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi gaz halinde bazı mediatörlerin yoğunlukları ölçülebilir [4]. Ancak, ekspiryum havasındaki gazların ölçülmesi, kolay ve tekrarlanabilir olmasına rağmen, çoğu enflamatuar mediatör uçucu değildir ve dışarı verilen havanın gaz fazında tespit edilemezler. Uçucu olmayan maddelerin düzeylerindeki değişikliklerin tespit edilebildiği başlıca yöntemler, uyarılmış balgam ve BAL ile sınırlı iken, ekspirasyon havasının yoğunlaştırılmasıyla elde edilen sıvıda (yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası, YEH; exhaled breath condensate, EBC) bazı biyolojik belirteçlerin, havayolu enflamasyonu değerlendirmedeki değeri konusunda son yıllarda giderek artan sayıda çalışma yayımlanmıştır. YEH'yi ilginç kılan, materyali elde etmenin tamamen noninvaziv olması ve hasta için herhangi bir rahatsızlık veya risk oluşturmamasıdır.

Akciğerler geniş bir yüzey alana sahiptir ve ekshalasyonla günde yaklaşık 500 mL sıvı buharlaşma şeklinde atılır. Bazı damlacıkların hava yolu yüzeylerinden kaynaklandığı ve tüberküloz gibi enfeksiyöz etkenlerin yayılmasından sorumlu olduklarının anlaşılmış olmasına rağmen, yakın zamana kadar dışarı verilen havanın genel olarak yalnızca respiratuar yüzeylerden buharlaşarak oluşan gaz yapısındaki suyu içerdiği kabul edilmekteydi. Bu sıvının tamamen solunum yüzeyinden buharlaşma yoluyla geldiği, bu nedenle buharlaşmayan maddeleri içermeyeceği düşünülürken, nefesle verilen sıvının bir bölümünü solunum yollarından kaynaklanan damlacıkların oluşturduğu gösterilmiştir. Suda eriyen uçucu bileşikler yanı sıra, proteinler, elektrolitler ve üre dahil olmak üzere uçucu olmayan maddelerin de bulunması, YEH'in küçük bir kısmının nefes alıp verme sırasındaki iletici güçler ile solunum yüzeylerinden gelen damlacıklardan kaynaklandığını göstermektedir. Dolayısıyla elde edilen YEH aslında solunum yollarından gelen uçucu olmayan maddeler için bir çözgen olarak değil, daha çok bu maddeleri taşıyıcı bir araç olarak kabul edilebilir. YEH'i oluşturan sıvı, cihaz ile alveol arasındaki anatomik yapılar (ağız, üst solunum yolları ve nazal kavite, alt solunum yolları, alveoller) kaynaklanmaktadır [5]. Tidal solunum sırasında saptanan partiküllerin sayısı 0,1-4 partikül/cm³ arasında ve ortalama 0,3 µm'den küçüktür. Nefesteki aerosol damlacıklarının turbülant akımla ekstrasellüler yüzey sıvı tabakasından kaynaklandığı kabul edilmektedir ve bronkoalveolar yüzey sıvısının bileşimini yansıtabilir [5].

Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası örneklerinde saptanan uçucu olmayan enflamatuar araçların konsantrasyonundaki artış hava yollarını örten sıvıdaki bu araçların konsantrasyonlarında gerçek bir artış veya YEH'de toplanan su buharının hacmine bağlı olarak solunum damlacıklarının sayısında veya hacminde artıştan kaynaklanabilir. Hava yolu salgılarında ve turbülansında artışlar nedeniyle, solunum yolu obstrüksiyonu bulunan hastalarda bu damlacıkların sayısında veya ortalama hacminde artışlar beklenebilir [6].

Nefesle verilen hava içindeki su buharı, kendi ısısından daha soğuk bir yüzeye temas ettiğinde yoğunlaşarak sıvı hale geçer. Elde edilen sıvının miktarı ventilasyon durumu (dakika ventilasyonu), ekspiryum havasının ısı ve nem oranı ile ilişkilidir. İşlem sırasında hasta tidal solunum yaptığı için havayolunun gerçek durumunu yansıtmada duyarlıdır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda YEH'in incelenmesi ile astım, KOAH, kistik fibrozis, bronşektazi, akut akciğer hasarı ve akut solunumsal zorluk sendromu (ARDS) başta olmak üzere birçok solunum yolu hastalığının takip ve tedavisinde yararlı olabileceği ileri sürülmektedir.

Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havasında çeşitli enflamatuar mediatörler, oksidatif stres belirteçleri, ağır metal veya toksik metaller gösterilebilir (Tablo 1).

Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası ile ilgili verilerin artmasıyla birlikte, ATS/ERS tarafından yöntemdeki problemler ve yanıtlanması gereken sorularla ilgili bir rapor hazırlanarak, YEH toplanması ve biyolojik belirteçlerin ölçüm yöntemlerinin belirlenmesi, kullanım alanları ve kısıtlılıkları konusunda bir uzlaşma raporu yayımlanmıştır [7]. Bu raporda YEH'in yalnızca hasta izleminde ve hastalıkların patogenezi anlamada değil sağlıklı bireylerde de erken akciğer hasarını belirlemede ümit verici bir yöntem olduğu, pH, H_2O_2 , adenosin, 8-izoprostan gibi biyolojik belirteçler üzerine kısa süreli girişimlerin (sigara dumanı, ilaçlar gibi) veya uzun süreli izlemede biyolojik belirteç düzeylerindeki değişimlerinin araştırılmasında noninvaziv, tekrarlanabilir bir yöntem olduğu vurgulanmıştır. YEH'in oldukça seyreklik bir sıvı olması, farklı stabiliteye sahip mediatörlerin neredeyse saptanabilme sınırına yakın düzeyde düşük konsantrasyonlarda bulunması nedeniyle bunları saptayabilecek daha duyarlı yöntemlerin

Tablo 2. YEH ile ilgili dezavantajlar

Mediatörlerin anatomik orjini, büyük havayollarının katkısı tam olarak bilinmemektedir
Akım hızına bağımlıdır
Sıvı bileşimin yapısını etkileyen faktörlerin daha iyi anlaşılması gereklidir
Örneklerin nazal ve/veya oral kontaminasyonu riski vardır
Çok düşük konsantrasyonlarda olması nedeniyle bazı mediatörlerin ölçümü için daha duyarlı testlere ihtiyaç vardır
Referans değerler yoktur
Dilüsyonel etkiyi gösteren bir belirteç yoktur

geliştirilmesi yararlı olacaktır. Orofarengeal bölgedeki hastalıklardan etkilenme durumu çözümlenmesi gereken problemlerden birisidir [7]. Tüm bu sayılan avantajlarına karşın, YEH ile ilgili bildirilen bazı dezavantajlar Tablo 2’de yer almaktadır [8].

Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası’nın toplanması, ağızlık bölümünde tek yönlü kapakçık bulunan toplayıcı bir sistemin donmuş veya sıvı azot içine yerleştirilmesiyle yapılan bir sistemle yapılır. Araştırmacıların kendi yaptıkları bir sistem olabileceği gibi, ticari olarak yapılmış yoğunlaştırıcı sistemler de vardır. Genellikle kişiler 10-15 dakika süreyle burun klipsi takılarak tidal solunumla solutulur. Tidal volümle solutulma nedeni, toplanan YEH örnek içeriğinin ekshalasyon havasının hızına bağlı değişebilmesidir. Ekspirasyon havasında H_2O_2 miktarının daha yüksek hava akımı hızlarında konsantrasyonunun düştüğü, ancak tidal solunumda etkinin minimal olduğu bildirilmiştir [9]. Toplama süresi arttıkça toplanan sıvı miktarı, sıvıda total protein ve üre miktarında da artış saptanması nedeniyle bu bileşiklerin su buharına benzer mekanizmayla toplandığı düşünülmektedir. Standardizasyon için bazı araştırmacılar toplama süresi yerine, ekspirasyonla verilen hava miktarının önceden belirlenmesini (örn. erişkinlerde 100 L) önermişlerdir [7].

Yoğunlaştırma bölümü kapalı tutulurken ekspirasyon havası çıkışı tek yönlü kapakçık ile sağlanır. Toplayıcı sistem eğer 2 cam kap içerirse YEH sıvı formda dış cam kabın dibinde, iki cam yüzey arasında birikir. Genelde 10-15 dakikada solunumsal parametreler (dakika ventilasyonu, solunum sayısı, tidal volum), yoğunlaştırıcı yüzey materyali, sıcaklık ve hava akımı türbülansı baz alındığında 1-2,5 mL YEH örneği toplanabilir. Kliniğimizde kullandığımız EcoScreen elektrikli soğutma sistemi; ağızlık ve tek yönlü kapakçık içermektedir (JaegerTonnie, Hoechberg, Germany). Soğutucu manşet içindeki sıcaklık $-10^{\circ}C$ ’dir. Ekspirasyon süresince hava lamellar yoğunlaştırıcıyı izler, lamellar yoğunlaştırıcının iç yüzeyinde yoğunlaşır ve toplayıcı şişede sıvı halde birikir ve hemen donar. Bu durum özellikle lökotrienler gibi stabil olmayan bileşikler için bir avantajdır. Bu yoğunlaştırıcı sisteme bağlanan bir parça ile işlem süresi ve dakika ventilasyonunu elde etmek mümkündür. Toplayıcı sistem yüzeyinin, mediatörler ile kimyasal reaksiyona girmemesi için plastik veya teflon kaplı metalden yapılması gereklidir. EcoScreen içindeki lamellar kondansör gibi bazı toplayıcı sistemler, teflon (E.I. du Pont de Nemours & Company,

Inc., Washington, DE) ile kaplıdır. Bu şekilde toplayıcı sistem yüzeyine biyomoleküllerin adezyonundan ve konsantrasyonlarında artefakta bağlı azalmadan kaçınılması olur. RTube (Respiratory Research, Inc., Charlottesville, VA), diğer bir ticari yoğunlaştırıcıdır ve avantajı taşınabilir özelliği nedeniyle sahada yapılan çalışmalarda kullanılabilir. Bu cihaz, tek kullanımlık polipropilen toplayıcı sistem ile ekshalasyon kapakçığı içerir. Dondurucu sistem, tek kullanımlık polipropilen tüp üzerine yerleştirilen alüminyum dondurucu bölümü içerir. Bir çalışmada RTube ile EcoScreen karşılaştırıldığında; EcoScreen ile daha büyük hacimlerde sıvı toplanmış, sistenil lökotrienler ve ötaksin daha duyarlı şekilde saptanabilmiştir. Muhtemelen bu etki iki sistem arasındaki yoğunlaştırıcı ısı derecesi farklılıkları ve incelenen maddelerin labil olmalarından kaynaklanmaktadır [10]. YEH’de pH düzeyleri karşılaştırıldığında ise her iki yöntemle toplanan örnekler arasında pH açısından anlamlı farklılık olmadığı bildirilmiştir [11]. Barosilikat cam ile kaplanmış yoğunlaştırıcı sistem, YEH’de albümin saptanmasında silikon, alüminyum, polipropilen ve teflondan avantajlı bulunmuştur. Bu nedenle, farklı ticari sistemlerin birbirlerine olan avantajlarının anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır. YEH toplayıcı sistem materyalleri üzerinde antiseptik solusyonların etkileri bilinmemektedir. Antiseptik sıvılar toplayıcı sistem materyali ile etkileşime girebilir ve hasar oluşturabilirler [8]. Ortam havasındaki sıcaklık, nem, alınan havanın hızı toplanan YEH örneğini etkileyebilir ancak bu konuda yeterince çalışma yoktur. Ancak atmosfer havasında NO düzeyinin ekspirasyon havasındaki H_2O_2 düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir [12].

Yoğunlaştırılmış ekspirasyon havası örneğinin miktarı FVC veya FEV₁ gibi solunum fonksiyonlarına bağlı değildir. Bu nedenle, normal ve KOAH’lı hastalar arasında toplanan YEH miktarında fark bulunmamıştır. Havayolu çapının mediatörler üzerine olan olası etkisi konusunda yeterince çalışma olmamakla birlikte, metakolin sonrasında gelişen akut havayolu obstrüksiyonunun YEH asiditesi üzerine etkisi gösterilmemiştir [7].

Yaşla ilişkili olarak, H_2O_2 konsantrasyonu çocukluk döneminde yaşa bağlı değişiklik göstermemekle birlikte, erişkinlerde yaşa bağlı olarak artar. Yiyecek ve içeceklerin bilinen uçucu olmayan mediatörleri etkilemediği, ancak YEH örneğinde bakılacak maddeyi etkileyebilecek yiyecek ve içecekleri birkaç saat önceden itibaren tüketmemesi önerilmektedir (örn. Adenozin ölçülmeden önce kafein içeren içecekler

Tablo 3. Akciğer Hastalıklarında YEH ile yapılmış çalışmalarda sıklıkla çalışılan mediatörler [20,21]

Sigara içenlerde, kronik bronşitte	H ₂ O ₂ (hidrojen peroksit), 8- isoprostan
KOAH	H ₂ O ₂ , 8- isoprostan, serotonin, sitokinler (IL-1, solubl IL-2 Reseptör, TNF-alfa)
Astım	H ₂ O ₂ , 8-isoprostan, nitrotirosin, tiobarbitürik asit- reaktif ürünler, lökotrienler, pH
Bronşektazi	H ₂ O ₂
Kistik fibrozis	H ₂ O ₂ , nitrit, 8-isoprostan, IL-8
ALI/ARDS	H ₂ O ₂ , 8-isoprostan, PGE2
Akciğer kanseri	H ₂ O ₂ , sitokinler, metaller, DNA, protein ve peptidler

alınmamalıdır). Sigara içilmesinin hem akut, hem de kronik etkisinin olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle kişinin tütün kullanım öyküsü mutlaka alınmalı, en az 3 saat öncesinden sigara kullanmamalıdır [7].

Ekstrapulmoner sistemik hastalıklar da YEH'de mediatör düzeyini etkileyebilir. Üremik hastalarda sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında H₂O₂ düzeyi yaklaşık 20 kat daha fazla bulunmuştur [13].

Tükrük salgısında yüksek konsantrasyonlarda eikosanoidler (tromboksan B₂, lökotrien B₄ "LTB₄", PGF_{2α}), düşük düzeylerde PGE₂ ve prostasiklin bulunduğundan bulaş olması durumunda bakılacak parametreleri etkileyebilir [14]. İşlem öncesinde bireyin ağzını çalkalaması, işlem sırasında ağzın kuru kalması için gerektiğinde tükrüğünü yutması uygun olur.

Nitrozotiyoller (RS-NOs), NO'nin glutasyon gibi düşük molekül ağırlıklı tiyollerle veya proteinlerden arta kalan sistein üzerindeki tiyol gruplarıyla birleşmesiyle oluşur ve böylece NO'nin zararlı etkileri sınırlandırılmış olur. YEH'de RS-NOs düzeyi ağır astımlı olgularda, hafif astımlı olgulara kıyasla daha yüksek bulunmuştur [15]. YEH'de H₂O₂ düzeyinin kortikosteroid tedavi sonrasında düştüğü, astım dışında KOAH ve bronşektazili hastalarda da yüksek düzeyde olduğu gözlenmiştir [16-18]. Enflamatuvar havayolu hastalıklarında, YEH'de bazı enflamatuvar mediatörlerin düzeyinde artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 3). Metabonomik teknik olarak yüksek rezolüsyonlu nükleer manyetik rezonans spektrometri veya sıvı kromatografi/kütle spektrometrisi kullanılarak biyolojik sıvılarda birçok metabolitin bakılması anlamına gelen bir terimdir ve gelecekte YEH analizinde uygulanabilecek bir yöntem alabileceği düşünülmektedir. Bu yöntemin bilgisayar programlarıyla birleştirilmesiyle elde edilecek "breathogram", EKG, EEG gibi grafiksel olarak hastalıklar hakkında bilgi verebilir. Biyolojik örneklerde birçok proteini bir arada saptamaya yönelik yüksek çözünürlüklü jel elektroforez veya kütle spektrometrisi ile "proteomik" de yeni bir yaklaşım olabilir. Böylece hastalığa özgün bazı proteinlerin saptanması tedavide yeni yaklaşımların geliştirilmesine olanak sağlanabilir [19-21].

KAYNAKLAR

1. Tsoumakidou M, Tzanakis N, Siafakas NM. Induced sputum in the investigation of airway inflammation of COPD. *Respir Med* 2003;97:863-71. [CrossRef]
2. Sutherland ER. Sputum induction in COPD-It is safe, so now what do we do? *J COPD* 2006;3:73-4. [CrossRef]

3. Antczak A, Kharitonov SA, Montuschi P, et al. Inflammatory response to sputum induction measured by exhaled markers. *Respiration* 2005;72:594-9. [CrossRef]
4. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1693-722. [CrossRef]
5. Corradi, M. Overview of the measurements of different mediators in EBC. ERS School Course on Monitoring of Airway Disease. [Çevrimiçi] 2009. <http://www.ers-education.org/pages/default.aspx?id=1497>.
6. Effross RM, Su J, Casaburi R, et al. Utility of exhaled breath condensates in chronic obstructive pulmonary disease: a critical review. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 2005;11:135-9. [CrossRef]
7. Horvath I, Hunt J, Barnes PJ. ERS/ATS Taskforce on Exhaled Breath Condensate, Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 2005;26:523-48. [CrossRef]
8. Montuschi P. Analysis of exhaled breath condensate in respiratory medicine: methodological aspects and potential clinical applications. *Ther Adv Respir Dis* 2007;1:5-23. [CrossRef]
9. Schleiss MB, Holz O, Behnke M, et al. The concentration of hydrogen peroxide in exhaled air depends on expiratory flow rate. *Eur Respir J* 2000;16:1115-8. [CrossRef]
10. Soyer OU, Dizdar EA, Keskin O, Kalayci O. Comparison of two methods for exhaled breath condensate collection. *Allergy* 2006;61:1016-8. [CrossRef]
11. Koczulla R, Dragonieri S, Schot R, et al. Comparison of exhaled breath condensate pH using two commercially available devices in healthy controls, asthma and COPD patients. *Respir Res* 2009;10:78. [CrossRef]
12. Latzin P, Griese M. Exhaled hydrogen peroxide, nitrite and nitric oxide in healthy children: decrease of hydrogen peroxide by atmospheric nitric oxide. *Eur J Med Res* 2002;7:353-8.
13. Rysz J, Kasielski M, Apanasiewicz J, et al. Increased hydrogen peroxide in the exhaled breath of uraemic patients unaffected by haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:158-63. [CrossRef]
14. Bayley DL, Abusriwil H, Ahmad A, et al. Validation of assays for inflammatory mediators in exhaled breath condensate. *Eur Respir J* 2008;31:943-8. [CrossRef]
15. Corradi M, Montuschi P, Donnelly LE, et al. Increased nitrothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:854-8. [CrossRef]
16. Antczak A, Kurmanowska Z, Kasielski M, Nowak D. Inhaled glucocorticosteroids decrease hydrogen peroxide level in expired air condensate in asthmatic patients. *Respir Med* 2001;94:416-21. [CrossRef]
17. Loukides S, Horvath I, Wodehouse T, et al. Elevated levels of expired breath hydrogen peroxide in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:991-4. [CrossRef]
18. Dekhuijzen PN, Aben KK, Dekker I, et al. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chro-

- nic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 1996;154:813-6. [\[CrossRef\]](#)
19. Barnes PJ. ERS School Course on Monitoring Airway Disease, Amsterdam, 2009. European Respiratory Society. [Çevrimiçi] 2009. [Alıntı Tarihi: 2009] <http://www.ers-education.org/pages/default.aspx?id=1497>.
20. Mutlu GM, Garey KW, Robbins RA, et al. Collection and analysis of exhaled breath condensate in humans. Am J Respir Crit Care Med 2001;164:731-7. [\[CrossRef\]](#)
21. Chan H, Lewis C, Thomas P. Exhaled breath analysis: Novel approach for early detection of lung cancer. Lung Cancer 2009;63:164-8. [\[CrossRef\]](#)