

ODREĐIVANJE pH, PARCIJALNOG TLAKA KISIKA I UGLJIČNOG DIOKSIDA U KONDENZATU IZDAHA DJECE S ASTMOM

ŽELJKA VLAŠIĆ¹, SLAVICA DODIG¹, IVANA ČEPELAK², DAVOR PLAVEC¹, BORO NOGALO¹, MIRJANA TURKALJ¹, MILJENKO RAOS¹, LUKRICA ZIMIC¹

Cilj je bio odrediti pH, parcijalni tlak kisika (pO_2) i ugljičnog dioksida (pCO_2) u kondenzatu izdaha. Ispitano je 53-je djece (5-14 godina), svrstane u dvije skupine: djeca s umjerenom trajnom astmom ($N=34$) te klinički zdrava djeca ($N=19$). Djeci s astmom uzorkovana su dva uzorka kondenzata izdaha: jedan je nadslojen inernim plinom argonom, a drugi je propuhan argonom. Vrijednosti pH bile su statistički značajno manje u djece s astmom ($6,663 \pm 0,257$) nego u kontrolnoj skupini ($6,860 \pm 0,354$). Djeca s astmom imala su statistički značajno veće vrijednosti pO_2 ($20,38 \pm 2,51$ kPa) nego djeca kontrolne skupine ($16,96 \pm 3,38$), a vrijednosti pCO_2 nisu se statistički značajno razlikovale. Vrijednosti pH i plinova značajno su se razlikovale, ovisno o argonizaciji uzorka.

Ako postoji mogućnost da se pH i plinovi određuju odmah nakon uzorkovanja, uzorak kondenzata izdaha trebalo bi nadslojiti argonom, kako bi se spriječio utjecaj ambijetalnog zraka. Reproducibilnost i konačnu kliničku primjenu takvog načina pripreme i analize uzorka potrebno je još ispitati.

Deskriptori: ASTMA – patofiziologija; KISIK – analiza; UGLJIČNI DIOKSID – analiza; pH; PARCIJALNI TLAK; TESTOVI DISANJA

UVOD

U području pulmologije posljednjih je godina pozornost istraživača usmjerena na analizu kondenzata izdaha (KI) (1), uzorka koji se dobiva na jednostavan i neinvazivan način. U brojnim publikacijama opisane su povećane koncentracije upalnih medijatora i pokazatelja oksidacijskog stresa u različitim bolestima pluća (2, 3, 4). Iako izvor sastojaka KI-a nije u cijelosti poznat, smatra se da odgovara sastavu tekućine koja oblaže dišne putove, ali u znatno manjim koncentracijama (3). Temeljem dosadašnjih istraživanja može se zaključiti da analiza KI-a ima veliki potencijal za rano otkrivanje patoloških promjena u plućima, definiranje težine plućne bolesti, njeno praćenje, predviđanje

egzacerbacija kao i moduliranje terapije plućnih bolesti (3, 4). Međutim, unatoč brojnim prednostima postupka dobivanja i analize KI-a (jednostavno dobivanje, čak i u kućnim uvjetima, reproducibilnost, neinvazivnost postupka, mogućnost longitudinalnih ispitivanja i dr.), brojni metodološki problemi, na optimiranju i standardizaciji kojih se također intenzivno radi, još i sad su neriješeni (5, 6). Prije upotrebe u kliničkoj svakodnevici potrebno je optimirati i standardizirati kako način uzimanja, pohrane i obrade uzorka, tako i analitičke postupke određivanja biokemijskih biljega, definirati čimbenike koji utječu na rezultate njihova određivanja, odrediti referentne raspone, definirati njihovo dijagnostičko značenje za pojedinu plućnu bolest i usporediti njihovo značenje u odnosu na trenutne "zlatne standarde" u dijagnostici plućnih bolesti te odrediti njihovu ulogu u praćenju djetelotvornosti primijenjene terapije (7).

Jedna od uloga pluća je održavanje intracelularne pH homeostaze, a pH-vrijednost rezultat je ravnoteže različitih pufer-skih sustava i otpuštanja kiselina i baza

unutar dišnog sustava. Ta je homeostaza narušena u različitim plućnim bolestima, poput astme, kronične opstruktivne plućne bolesti (KOPB), cistične fibroze, bronhiektazija (8, 9, 10).

Dokazano je da pH KI-a korelira dobro s drugim pokazateljima upalnog procesa u plućima, primjerice brojem eozinofilnih i neutrofilnih granulocita u induciranom sputumu (7) kao i s egzacerbacijom astme (10) i KOPB-om (11).

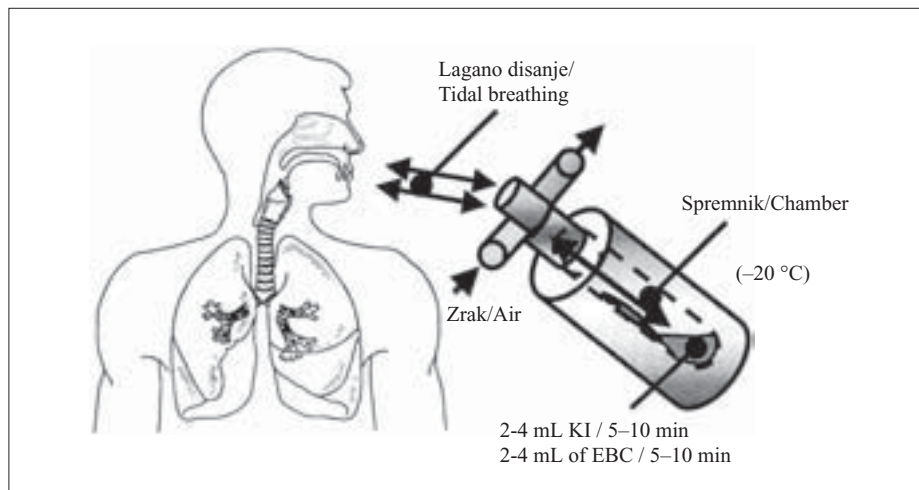
pH se može jednostavno i precizno mjeriti pH elektrodama, odnosno biosenzorima, pa je i određivanje pH u KI-u u analitičkom smislu jednako tako jednostavno i reproducibilno (12, 13). Međutim, dokazana je značajna varijabilnost rezultata mjerenja pH. Glavni čimbenici ove varijabilnosti rezultata pri određivanju pH i plinova (parcijalnog tlaka kisika, pO_2 i ugljičnog dioksida, pCO_2) u KI-u su tzv. predanalitički čimbenici: utjecaj ambijetalnoga parcijalnog tlaka tih plinova, vrijeme proteklo od uzorkovanja do mjerenja, priprema uzorka za analizu te eventualno način pohrane KI-a (14). U tom smislu opisani su različiti pristupi pripre-

¹ Dječja bolnica Srebrnjak, 10000 Zagreb, Hrvatska

² Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 10000 Zagreb, Hrvatska

Adresa za dopisivanje:

Željka Vlašić, dr. med., Dječja bolnica Srebrnjak, Srebrnjak 100, 10000 Zagreb, Croatia, e-mail: zelvaskavlasic@yahoo.com



Slika 1. Uzorkovanje kondenzata izdaha (KI-a) (1)
Figure 1. Exhaled breath condensate (EBC) sampling (1)

Tablica 1. Vrijednosti pH, pO_2 i pCO_2 u djece s astmom i djece kontrolne skupine
Table 1. Values of pH, pO_2 i pCO_2 in children with asthma and children in the control group

		Astma/Asthma	Kontrola/Control	p
pH	Raspon/Range	6,080 – 7,077	6,224 – 7,485	
	$\bar{x} \pm SD$	6,663 $\pm$ 0,257	6,860 $\pm$ 0,354	0,0232
pO_2 kPa	Raspon/Range	15,86 – 25,2	10,85 – 22,97	
	$\bar{x} \pm SD$	20,38 $\pm$ 2,51	16,96 $\pm$ 3,38	0,0001
pCO_2 kPa	Raspon/Range	0,87 – 4,17	0,60 – 3,74	
	$\bar{x} \pm SD$	2,21 $\pm$ 0,89	1,86 $\pm$ 1,05	0,198

$\bar{x}$ – aritmetička sredina/average; SD – standardna devijacija/standard deviation; p – statistička značajnost/statistical significance

mi dobivenog KI-a za analizu pH, koji još i sad nisu standardizirani: neki su istraživači pH u KI-u određivali odmah nakon uzorkovanja, odnosno bez gas standardizacije (15, 16), dok veći dio njih preporučuje gas standardizaciju KI-a prije određivanja pH u uzorku (12, 17, 18, 19). Propuhivanjem inertnim plinom argonom ili CO_2 -free gas (gas standardizacija) uklanjanje se CO_2 iz uzorka te tako smanjuje utjecaj CO_2 i bikarbonata na određivanje pH. Kullman i sur. predlažu čak standardizaciju s CO_2 pri parcijalnom tlaku CO_2 od 5.33 kPa, što je fiziološki alveolarni parcijalni pritisak CO_2 (20).

Poučeni iskustvom određivanja plinova u krvi, koja ne smije doći u kontakt s ambijetalnim zrakom, ovim smo radom željeli odrediti vrijednosti pH, pO_2 i pCO_2 u kondenzatu izdaha djece s astmom te ispitati utjecaj načina argonizacije na rezultate određivanja odabranih parametara.

ISPITANICI I METODE

Ispitanici

Ukupno je ispitano 53-je djece u dobi od 5 do 14 godina, svrstane u dvije skupi-

ne: djeca s umjerenom trajnom astmom (N=34) liječena u Dječjoj bolnici Srebrnjak i klinički zdrava djeca (N=19), dobrotoljci iz jedne zagrebačke osmogodišnje škole (kontrolna skupina). Astma je već prije dijagnosticirana i preporučena je terapija prema međunarodnim smjernicama GINA (*Global Initiative for Asthma*) za opću strategiju liječenja i prevencije astme (*Global Strategy for Asthma Management and Prevention*) (21). Odbrana su djeca s akutnom egzacerbacijom osnovne bolesti, a isključena djeca koja su imala infekciju dišnog sustava unutar mjesec dana. Etičko povjerenstvo bolnice odobrilo je istraživanje, a roditelji su potpisali informirani pristanak.

Metode

Kondenzat izdaha

Uzorak KI-a uzorkovan je prema preporukama radne skupine Američkog torakalnog društva i Europskog respiratornog društva (ATS/ERS Task Force, ATS, *American Thoracic Society*; ESR, *European Respiratory Society*) (22) izdisanjem zraka u rashlađeni spremnik

aparata EcoScreen (Erich Jaeger GmbH, Hoechberg, Germany), pri čemu se za 10-ak minuta može dobiti oko 2 mL uzorka (slika 1).

Djeci s egzacerbacijom astme uzorci su uzimani prije inhalacijske terapije (β -2 agonisti kratkog djelovanja ili inhalacijski kortikosteroidi), zbog pretpostavke da bi navedeni lijekovi mogli utjecati na određene promjene u vrijednostima parametara u KI-u.

Nadslojavanje i propuhivanje kondenzata izdaha argonom

Djeci s astmom uzorkovana su dva uzorka KI-a: jedan je nadslojen inertnim plinom argonom, s protokom od 6 L/min⁻¹ (kroz 2 minute) (uzorak A), a drugi je propuhan argonom, s protokom od 350 mL/min⁻¹ kroz 6 minuta (uzorak B). Djeci kontrolne skupine uzet je jedan uzorak KI-a, koji je potom nadslojen argonom.

Određivanje pH, pO_2 i pCO_2

Za određivanje pH, pO_2 i pCO_2 upotrijebljen je analizator Ecosys II. (Eschweiler GmbH&Co. KG, Kiel, Germany), a određivanje je obavljeno 3 - 5 minuta nakon uzorkovanja KI-a. Vrijednosti pH, izražene kao koncentracija vodikovih iona $[H^+]$, izračunate su pomoću specijaliziranog kalkulatora (23).

Statističke metode

Pohrana podataka i priprema za statističku analizu obavljena je u programu Excel 2000 programskog paketa Microsoft Office (Microsoft, SAD). Obrada podataka obavljena je u programu za statističku obradu MedCalc 9.4.1.0 (Medi-software, Mariakerke, Belgium) (24). Budući da su varijable slijedile normalnu raspodjelu, opisane su aritmetičkom sredinom ($\bar{x}$) i standardnom devijacijom (SD). Vrijednosti $p < 0,05$ smatrane su statistički značajnima (25).

REZULTATI

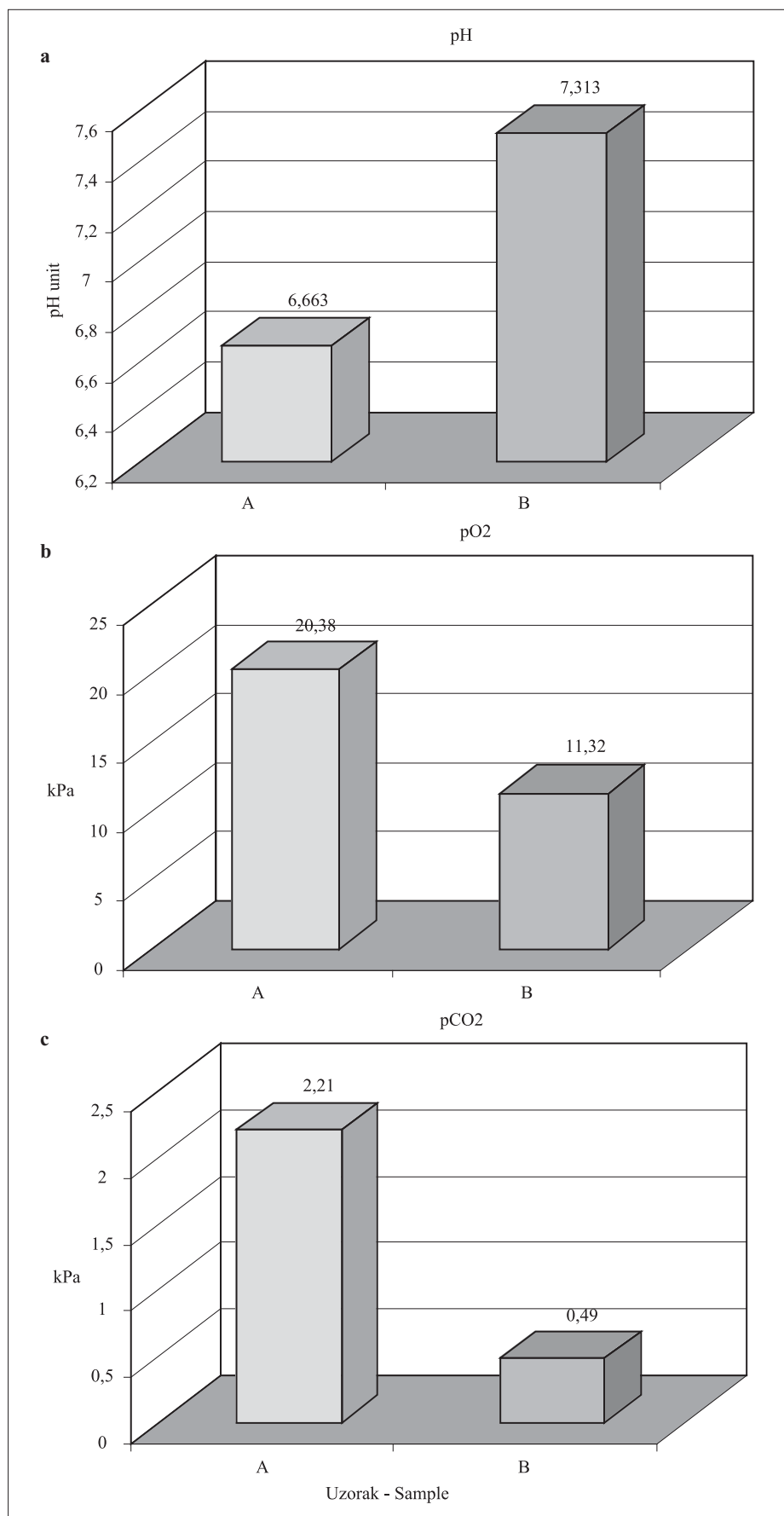
Djeca s astmom imala su statistički značajno manje vrijednosti pH (6,663 $\pm$ 0,257) nego djeca u kontrolnoj skupini (6,860 $\pm$ 0,354) te statistički značajno veće vrijednosti pO_2 (20,38 $\pm$ 2,51 kPa) nego djeca kontrolne skupine (16,96 $\pm$ 3,38 kPa). Vrijednosti pCO_2 nisu se statistički značajno razlikovale (tablica 1). Vrijednost pH bila je obrnuto razmjerna s

$p\text{CO}_2$, kako u djece s astmom (koeficijent korelacije, $r=-0,646$, $p<0,0001$), tako i u djece kontrolne skupine ($r=-0,670$, $p=0,0017$).

Vrijednosti pH, $p\text{O}_2$ i $p\text{CO}_2$ u djece s astmom statistički su se značajno razlikovale, ovisno o načinu argonizacije uzorka (slika 2). Tako su $p\text{O}_2$ i $p\text{CO}_2$ u uzorcima nadslojenima argonom bili značajno ($p=0,000$) veći ($p\text{O}_2$: $20,38 \pm 3,04$ kPa; $p\text{CO}_2=2,21 \pm 1,12$ kPa) nego u uzorcima propuhanima argonom ($p\text{O}_2=11,32 \pm 2,32$ kPa; $p\text{CO}_2=0,49 \pm 0,10$ kPa). Vrijednosti pH bile su značajno manje ($p=0,033$) u uzorcima nadslojenima argonom ($\text{pH}=6,663 \pm 0,212$) nego u uzorcima propuhanima argonom ($\text{pH}=7,313 \pm 0,113$), što znači da je pH uzoraka zaštićenih od utjecaja ambijentalnih plinova bio u kiselom području, a pH uzoraka propuhanih argonom su pomaknute prema alkalnom području (razlika iznosi 0,650 pH jedinica). Ako se vrijednost pH prikaže kao koncentracija vodikovih iona $[\text{H}^+]$, može se vidjeti da je srednja koncentracija H^+ iona u uzorcima nadslojenim argonom iznosila $2,173 \times 10^{-7}$ ($\text{pH}=6,663$), a u uzorcima propuhivanim argonom $4,864 \times 10^{-8}$ ($\text{pH}=7,313$).

RASPRAVA

Ovo je istraživanje pokazalo da se vrijednosti pH i plinova u KI-u djece s astmom značajno razlikuju od rezultata u klinički zdrave djece, pod uvjetom da se uzorak kondenzata zaštititi od utjecaja ambijentalnih plinova. Sva djeca s astmom (a samo dio klinički zdrave djece) imala su vrijednosti pH u kiselom području, što je u skladu s brojnim istraživanjima koja su pokazala da je acidifikacija u dišnom sustavu popratna pojava različitih plućnih bolesti, primjerice akutnog oštećenja pluća, astme, KOPB-a, cistične fibroze, bronhiektazija (8, 18, 12, 15, 26, 27). Primjerice, Ojoo i sur. (9) su i u djece s blagom, klinički stabilnom astmom (srednja vrijednost $\text{pH} = 5,82$) i u zdrave djece (srednja vrijednost $\text{pH} = 6,02$) dobili vrijednosti pH u kiselom području. Borriell i sur. (28) su uspoređivali promjenu pH u KI-u bolesnika s astmom i KOPB-om prije i poslije propuhivanja argonom te pokazali da se nakon argonizacije vrijednost pH povećala za otprilike 1 pH jedinicu. U našem je istraživanju razlika u pH vrijednosti iznosila 0,650 pH jedinica. Za postojanje pH vrijednosti KI-a u kiselom području, Effros i sur. počeli su rabiti izraz acidopneja



Slika 2. Vrijednosti pH, $p\text{O}_2$ i $p\text{CO}_2$ u KI-ima pripremljenima nadslojavanjem (A) i propuhivanjem (B) argonom
Figure 2. Values of pH, $p\text{O}_2$ i $p\text{CO}_2$ in argon overlined (A) and argon bubbled (B) EBC's

("acid breath" - "acidopnoea") (29, 30, 31). No Widdicombe smatra da riječ acidopneja nije moguće upotrebljavati u znanstvenom izričaju, jer dah (koji je plin) ne može biti ni kiseo ni alkalni (32).

Svakim se udahom u mirovanju 10% zraka u plućima zamijeni s atmosferskim zrakom (33), u kojem je $pO_2 = 21$ kPa, a $pCO_2 = 0$. pO_2 u udahu iznosi oko 20 kPa, a u alveolama oko 14,7 kPa, dok pCO_2 u alveolama iznosi oko 5,3 kPa (33, 34), što je u skladu s našim prethodnim ispitivanjem (35). U izdahu je $pO_2 = 15,9$ kPa, a $pCO_2 = 4,2$ kPa (34). Rozycski i sur. su u novorođenčadi liječene u intenzivnoj njezi (dob <8 dana; porođajna tjelesna masa <1000 g) dobili vrijednosti $pCO_2 = 5,24 \pm 1,57$ kPa. (36). Naši su rezultati pokazali da su u KI-u nadslojenim argonom srednje vrijednosti pO_2 (20,38 kPa) sukladne vrijednostima u udahu (33, 34), a srednje vrijednosti pCO_2 (2,21 kPa) gotovo su dvostruko manje od vrijednosti u izdahu (33, 34). Rezultati pCO_2 i pO_2 mogli bi uputiti na to da je dobiveni uzorak KI-a mješavina izdahnutih i udahnutih plinova, što je i očekivano, jer se KI uzorkuje tijekom mirnog disanja, kad je volumen disanja mali, a mrtvi prostor relativno veliki (37). Na taj način došlo je do miješanja udahnutog zraka iz mrtvog prostora i izdahnutog zraka iz alveola i bronha.

Moglo bi se pretpostaviti da su vrijednosti pO_2 bile veće u djece s astmom zbog toga što je u egzacerbaciji bolesti ekspirij otežan i produljen, pa se analizira zrak koji je tijekom izdisaja zaostao u velikim dišnim putovima (traheja). Dio zraka iz alveola se smanjuje, a dio iz mrtvog prostora je konstantan. Zbog toga je promijenjen omjer kisika i ugljičnog dioksida. Prema tome, plići udah te manji i sporiji izdah u djece s egzacerbacijom astme rezultirali su povećanim parcijalnim tlakom kisika u KI-u u usporedbi s kontrolnom skupinom djece.

Različiti načini argonizacije KI-a u ovom radu imaju različite ciljeve: spriječiti utjecaj ambijetalnog zraka na sastav volatilnih elemenata kondenzata izdaha (nadslojavanje argonom) odnosno standardizirati pCO_2 (propuhivanje argonom). Nadslojavanje argonom trebalo bi, dakle, spriječiti difuziju plinova iz atmosfere u uzorak i obratno, iz uzorka u atmosferu. Tako se vrijednosti volatilnih elemenata, čija se koncentracija mijenja ovisno o utjecaju atmosferskog zraka, barem na neko vrijeme održava stabilnom (9, 15, 16). Propuhivanje argonom prvenstveno

ima za cilj smanjivanje ugljičnog dioksida u uzorku, odnosno standardiziranje koncentracije CO_2 , kako bi se smanjio utjecaj CO_2 na određivanje pH. Tome u prilog idu rezultati gas standardizacije argonom, koja se temelji na uklanjanju ugljičnog dioksida i bikarbonata iz uzorka (14), odnosno gas standardizacije s ugljičnim dioksidom (20), koja se temelji na postizanju parcijalnog tlaka CO_2 od 5,3 kPa kakav postoji u alveolama. Propuhivanjem KI-a inertnim plinom uspostavlja se ravnoteža u parcijalnim tlakovima kisika i ugljičnog dioksida između zraka i uzorka. Kad se ta ravnoteža jednom uspostavi, vjerojatno se više neće značajno promijeniti, osim ako bi se promijenio ambijetalni parcijalni tlak ispitivanih plinova, koji, prema Henryjevom zakonu izravno determinira koncentraciju plina u tekućini (38).

Prema *American Thoracic Society Workshop Proceedings* (2) pH u KI-u se može određivati prije gas standardizacije ili nakon nje, ali treba uzeti u obzir da bez gas standardizacije vrijednost pH nije stabilna, jer se mijenja pod utjecajem atmosfere i izdahnutog CO_2 . U kontaktu s ambijetalnim zrakom parcijalni tlak CO_2 se postupno smanjuje - dio se otapa u vodi i stvara ugljičnu kiselinu, koja smanjuje pH. pH se stoga brzo mijenja. Nadslojavanje može na neko vrijeme odgoditi otpuštanje CO_2 te povećanje pH vrijednosti. Stoga je parcijalni tlak plinova i pH potrebno odrediti u što kraćem vremenu od uzorkovanja. Bloemen i sur. su pH određivali u neaeriziranom uzorku unutar 5 minuta od uzorkovanja te dobili vrijednosti pH u kiselom području (median 6,17) (16). Vrijednosti plinova dobivene u uzorcima koji su propuhani s argonom u kliničkom su smislu nekorisni (39), pa smatramo da radi određivanja pO_2 i pCO_2 uzorak treba nadslojiti argonom, a plinove odrediti što je prije moguće (u našim uvjetima to je moguće ostvariti unutar 5 minuta od pripreme KI-a). Činjenici da je u bolesnika s astmom otežan izdisaj, moguće je pripisati razliku u parcijalnom tlaku plinova u djece s astmom i djece kontrolne skupine. Te je rezultate potrebno potvrditi ispitivanjem na većem broju bolesnika, uz istodobno određivanje parametara plućne funkcije.

Ovo je istraživanje pokazalo da je glavni problem pri određivanju pH i plinova u kondenzatu izdaha predanalitički faktor - utjecaj ambijetalnoga parcijalnog tlaka tih plinova. Rezultati mogu biti polazište u rješavanju nekih predanalitičkih problema. Koji način pripreme KI-a odabrati?

Uzorak nadslojen argonom mogao bi poslužiti za određivanje pO_2 , pCO_2 i pH u ograničenom vremenskom razdoblju, a uzorak u kojem je standardiziran sadržaj ugljičnog dioksida mogao bi poslužiti za određivanje pH kroz dulje vrijeme, pa i nakon pohrane, odnosno odmrzavanja. Ako se pH određuje u odleđenim uzorcima (ili u uzorcima prikupljenim u kućnim uvjetima), oni se moraju prije smrzavanja argonizirati. Ako bi se standardizacija provodila propuhivanjem s CO_2 (pCO_2 od 5,33 kPa) (20) postavlja se pitanje treba li takav uzorak zaštititi (nadslojiti argonom) od izlaska CO_2 u atmosferu.

Ako postoji mogućnost da se volatilni elementi određuju odmah nakon uzorkovanja, smatramo da uzorak KI-a treba nadslojiti argonom i tako spriječiti utjecaj ambijetalnog zraka, a analizu učiniti odmah nakon uzorkovanja, odnosno nadslojavanja. Reproducibilnost ovog načina pripreme uzorka potrebno je još ispitati. Tek tada bi se moglo prijeći na ispitivanje kliničke učinkovitosti tako dobivenih nalaza.

ZAHVALA

Prikazani rezultati proizašli su iz znanstvenog projekta (Kondenzat izdaha kao izvor biomarkera plućnih bolesti u djece, br. 277-2770966-0965) provođenog uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

LITERATURA

1. Montuschi P, Barnes PJ. Analysis of exhaled breath condensate for monitoring airway inflammation. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23:232-7.
2. ATS Workshop Proceedings: Exhaled breath condensate nitric oxide and nitric oxide oxidative metabolism in exhaled breath condensate. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:131-45.
3. Hunt J. Exhaled breath condensate: an evolving tool for noninvasive evaluation of lung disease. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110:28-34.
4. Carpenter C, Price P, Christmas B. Exhaled breath isoprostanes are elevated in patients with acute lung injury and ARDS. *Chest* 1998;114:1653-9.
5. Čepelak I, Dodig S. Exhaled breath condensate: a new method for lung disease diagnosis. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:945-52.
6. Horváth I, Hunt J, Barnes PJ. On behalf of the ATS/ERS Task Force on Exhaled Breath Condensate. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 2005; 26:523-8.
7. Kharitonov SA. Exhaled markers of inflammatory lung diseases: ready for routine monitoring? *Swiss Med wly* 2004;134:175-92.
8. Kostikas K, Papatheodorou G, Psathakis K, Panagou P, Loukides S. pH in expired breath condensate of patients with inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:1364-70.

9. Ojoo JC, Mulernnan SA, Kastelik JA, Morice AH, Redington AE. Exhaled breath condensate pH and exhaled nitric oxide in allergic asthma and cystic fibrosis. *Thorax* 2005;60:22-6.
10. Hunt JF, Fang K, Malik R, Snyder A, Malhotra, Platts-Mills TAE, et al. Endogenous airway acidification: implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:694-9.
11. Antczak A, Gorski P. Endogenous airway acidification and oxidant overload in infectious exacerbation of COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:725A.
12. Vaughan J, Ngamtrakulpanit L, Pajewski TN, Turner R, Nguyen TA, Smith A, i sur. Exhaled Breath Condensate pH is a robust and reproducible assay of airway acidity. *Eur Respir J* 2003;22:889-94.
13. Borrill Z, Starkey C, Vestbo J, Singh D. Reproducibility of exhaled breath condensate pH in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2005;25:269-74.
14. Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS boards of directors, July 1999. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:2104-17.
15. Tate S, MacGregor G, Davis M, Innes JA, Greening AP. Airways in cystic fibrosis are acidified: detection by exhaled breath condensate. *Thorax* 2002;57:926-9.
16. Bloemen K, Lissens G, Desager K, Schoeters G. Determinations of variability of protein content, volume and pH of exhaled breathe condensate. *Respir Med* 2007; 101:1331-7.
17. Brunetti L, Francavilla R, Tesse R, Strippoli A, Polimeno L, Loforese A, Miniello VL, Armenio L. Exhaled breath condensate pH measurement in children with asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2006;17:422-7.
18. Carraro S, Folesani G, Corradi M, Zanconato S, Gaston B, Baraldi E. Acid-base equilibrium in exhaled breath condensate of allergic asthmatic children. *Allergy* 2005;60:476-81.
19. Nicolaou N, Lowe LA, Murray CS, Woodcock A, Simpson A, Custovic A. Exhaled breath condensate pH and childhood asthma: unselected birth cohort study. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:254-9.
20. Kullman T, Barta I, Lazar Z, Szili B, Barat E, Valyon M, Kollai M, Horvath I. Exhaled breath condensate pH standardised for CO₂ partial pressure. *Eur Respir J* 2006;29:496-501.
21. Global Strategy for Asthma management and Prevention, Revision 2006, www.ginasthma.com/Guidelineitem.asp, available December, 29th, 2006.
22. Horvath I, Hunt J, Barnes PJ. On behalf of the ATS/ERS Task Force on Exhaled Breath Condensate. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 2005;26:523-48.
23. School of Engineering, Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, NY 12180, <http://www.rpi.edu/chem-eng/Biotech-Environ/EQUILOIBRIUM/ph.htm>, available January, 1st, 2007.
24. MedCalc Download, accessed June 15, 2006. www.medcalc.be/download.php.
25. Zar JH. Biostatistical analysis. 2nd ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1984.
26. Walsh BK, Mackey DJ, Pajewski T, Yu Y, Gaston BM, Hunt JF. Exhaled-breath condensate pH can be safely and continuously monitored in mechanically ventilated patients. *Respir Care* 2006;51:1125-31.
27. Gessner C, Hammerschmidt S, Kuhn H, Seyfarth HJ, Sack U, Engelmann L, Schauer J, and Wirtz H. Exhaled breath condensate acidification in acute lung injury. *Respir Med* 2003;97:1188-94.
28. Borrill ZL, Smith JA, Naylor J, Woodcock AA, Singh D. The effect of gass standardisation on exhaled breath condensate pH. *Eur Respir J* 2006; 28:251-2.
29. Effros RM, Dunning III MB, Biller J, Shaker R. The promise and perils of exhaled breath condensates. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;287: L1073-L1080.
30. Effros RM, Su J, Casaburi R, Shajer R, Biller J, Dunning M. Utility of exhaled breath condensates in chronic obstructive pulmonary disease: a critical review. *Curr Opin Pulm Med* 2005;11:135-9.
31. Effros RM, Casaburi R, Dunning M, Torday J, Biller J, Shaker R. The effects of volatile salivary acids and bases on exhaled breath condensate pH. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:386-92.
32. Widdicombe J. "Acidopnea" and the dictionary. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:800-1.
33. Koeslag J. The lungs: our defense against the ravages of fresh air. http://academic.sun.ac.za/med_physbio/med_physiology/dept/LUNGS.HTM, available January, 1st, 2007.
34. Treacher DF, Leach RM. ABC of oxygen. Oxygen transport-1. Basic principles. *BMJ* 1998;317: 1302-6.
35. Dodig S, Čepelak I, Plavec D, Vlašić Ž, Nogalo B, Turkalj M. The effect of gas standardization on exhaled breath condensate pH and pCO₂. *Eur Respir J* 2007;30:185-7.
36. Rozycki HJ, Sysyn GD, Marshall MK, Malloy R, Wiswell TE. Mainstream end-tidal carbon dioxide monitoring in the neonatal intensive care unit. *Pediatrics* 1998;101:648-53.
37. Reinhold P, Jaeger J, Schroeder C. Evaluation of methodological and biological influences on the collection and composition of exhaled breath condensate. *Biomarkers* 2006;11:118-42.
38. P. W. Atkins, Physical Chemistry, 6th ed., Oxford University Press, 1998. Henry's law constant for oxygen taken from Table 7.1 on page 174.
39. Dodig S, Čepelak I, Vlašić Ž, Zrinski Topić R, Živčić J, Nogalo B. Partial oxygen and carbon dioxide pressure of exhaled breath condensate. *Lab Med* 2008;39:537-9.

Summary

pH, PARTIAL OXYGEN AND CARBON DIOXIDE PRESSURE DETERMINATION IN EXHALED BREATH CONDENSATE OF CHILDREN WITH ASTHMA

Ž. Vlašić, S. Dodig, I. Čepelak, D. Plavec, B. Nogalo, M. Turkalj, M. Raos, L. Zimić

The aim of the study was to determine the values of pH, partial oxygen pressure (pO₂) and partial carbon dioxide pressure (pCO₂) in exhaled breath condensate (EBC). EBC was collected from a total of 53 children (5 to 14 years), divided into two groups: children with moderate persistent asthma (N=34) and clinically healthy children (N=19). Two EBC samples were obtained from each child with asthma: the first one was argon overlined and the second one was argon bubbled. The pH values were statistically significantly lower in the group of asthmatic children (6.663±0.257) than in the control group (6.860±0.354). Children with asthma had statistically significant higher values of pO₂ (20.38±2.51 kPa) than children in the control group (16.96±3.38), and the values of pCO₂ were not statistically significant. The values of pH and gases were significantly different depending on the sample argonization.

If there is the possibility to determine pH and gases right after sampling, the EBC sample should be overlined with argon in order to prevent the influence of the ambient air. The reproducibility and the final clinical use of this method of preparation and sample analysis is yet to be determined.

Descriptors: ASTHMA – physiopathology; OXYGEN – analysis; CARBON DIOXIDE - analysis; HYDROGEN-ION CONCENTRATION; PARTIAL PRESSURE; BREATH TESTS

Primljeno/Received: 10. 10. 2008.

Prihvaćeno/Accepted: 7. 04. 2009.