Il pH del condensato esalato nei bambini con fibrosi cistica e asma*

Un nuovo marker non invasivo dell'infiammazione delle vie aeree?

Giovanna E. Carpagnano, MD; Peter J. Barnes, MD, DM, Dsc; Jackie Francis; Nicola Wilson, MD; Andrew Bush, MD; Sergei A. Kharitonov, MD, PhD

Obiettivi dello studio: **La determinazione ed il monitoraggio non-invasivi delle vie aeree può essere importante nella patologia respiratoria. Il pH del condensato del respiro esalato (EBC) è un marker promettente. Nonostante il pH dell'EBC sia stato misurato negli adulti con malattie infiammatorie delle vie aeree, nessun studio l'ha misurato nei bambini.**
Disegno: **Questo studio intendeva verificare se vi fosse una variazione nel pH dell'ECB dei bambini con fibrosi cistica (CF) e asma, e provare a determinare se il pH possa essere usato come un marker dell'infiammazione delle vie aeree. Inoltre, sono state studiate le relazioni tra pH dell'EBC, severità della patologia e stress ossidativo.**
Pazienti e metodi: **Abbiamo studiato 20 bambini con CF (età media [± SEM], 7 ± 3 anni), 20 bambini con asma (età media 7 ± 2 anni) e 15 bambini sani uguagliati per età (età media 7 ± 2 anni). Il pH dell'ECB è stato misurato tramite un pH-metro.**
Misure e risultati: **I valori più bassi di pH sono stati osservati sull'EBC dei bambini con CF e asma confrontati con i soggetti di controllo (pH medio 7,23 ± 0,03 e 7,42 ± 0,01 vs 7,85 ± 0,02 rispettivamente). Inoltre, sono state trovate delle relazioni tra il pH dell'ECB, la severità dell'asma e la presenza di un'esacerbazione infettiva della CF. C'è stata una correlazione negativa tra il pH dell'esalato e le concentrazioni del leucotriene B4 esalato (r = -0,5; p < 0,005).**
Conclusioni: **Noi concludiamo che la misura del pH dell'ECB può essere utile nella valutazione dell'infiammazione delle vie aeree nei bambini con asma e CF.**

(CHEST Edizione Italiana 2004; 3:7-12)

Parole chiave: infiammazione delle vie aeree; fibrosi cistica; 8-isoprostano; condensato esalato espirato; leucotriene B_4; pH

Abbreviazioni: CF = fibrosi cistica; EBC = condensato del respiro esalato; IL = interleuchina; LT = leucotriene

L'infiammazione delle vie aeree gioca un ruolo chiave nella patogenesi dell'asma e della fibrosi cistica (CF). Nell'asma, l'infiammazione delle vie aeree è considerata l'anomalia fondamentale, che determina un'ostruzione variabile delle vie aeree e l'iperreattività bronchiale.[1] Nella CF, l'infiammazione cronica delle vie aeree è il risultato di una combinazione di ripetute infezioni batteriche polmonari e di un'esagerata risposta dell'ospite a questo processo.[2] Poiché l'infiammazione delle vie aeree è importante in molte patologie respiratorie e visto che la terapia anti-infiammatoria con cortisonici e antagonisti recettoriali dei leucotrieni (LT) è ampiamente prescritta per il suo trattamento, molti gruppi hanno focalizzato la loro ricerca nel trovare un metodo non-invasivo per la diagnosi ed il monitoraggio.

*Dal Dipartimento di Medicina Toracica, National Heart & Lung Institute, Imperial College, London, UK.
Manoscritto ricevuto il 10 luglio 2003; revisione accettata il 20 febbraio 2004.
La riproduzione di questo articolo è vietata in assenza di autorizzazione scritta dell'American College of Chest Physicians (e-mail: permissions@chestnet.org).
Corrispondenza: Sergei A. Kharitonov, MD, PhD, Dipartimento di Medicina Toracica, National Heart & Lung Institute, Imperial College, Dovehouse St, London SW3 6LY, UK; email: s.kharitonov@imperial.ac.uk
(CHEST 2004; 125:2005-2010)

La misura dei marcatori infiammatori nel condensato del respiro esalato (ECB) degli adulti e dei bambini ha aggiunto una nuova prospettiva allo studio dell'infiammazione delle vie aeree.[3-9] I marcatori che sono stati studiati includono interleuchine (IL)-1ß,[10] IL-8,[11] IL-10,[12] IL-6,[9] il fattore necrotizzante tumorale-α,[10] e LTB_4.[8] Il pH dell'EBC è semplice da misurare, non invasivo, economico e riproducibile,[13] e può anche essere un marcatore dell'infiammazione delle vie aeree. Livelli di pH marcatamente bassi (cioè acidi) sono già stati misurati nel condensato del respiro esalato di adulti con asma, CF, BPCO e bronchiettasie. Tuttavia, nessun studio ha misurato il pH dell'ECB nei bambini.

Lo scopo di questo studio è stato di valutare il pH dell'ECB nei bambini e nell'asma e di confrontarlo con le concentrazioni di un altro marcatore infiammatorio conosciuto che è misurabile nell'ECB, vale a dire l'LTB_4. Inoltre, sono state indagate le relazioni tra pH dell'ECB, severità delle patologie e stress ossidativo.

Materiali e Metodi

Pazienti

Noi abbiamo studiato 20 bambini con CF (11 bambini maschi; età media 7 ± 3 [± SEM]; FEV_1 medio 61 ± 2,4%; FVC medio 73 ± 2,2%), 20 bambini con asma (10 bambini maschi; età media 7 ± 2, FEV_1 medio 69,3 ± 4,2%; FVC medio 78,4 ± 2,7%) e 15 bambini sani (6 bambini maschi; età media 7 ± 2, FEV_1 medio 102,2 ± 1,8%; FVC medio 104,1 ± 2,3%) senza alcuna storia di sintomi respiratori acuti o cronici. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad una anamnesi completa ed a un esame fisico. Sia i pazienti che i soggetti di controllo erano di razza bianca e sono stati reclutati presso il Royal Brompton Hospital ed erano tutti in grado di eseguire delle spirometrie riproducibili. Il consenso informato è stato ottenuto da tutti, sia dai soggetti arruolati che da coloro che si occupavano di loro; il Comitato Etico del Royal Brompton e l'Harefield National Health Service Trust hanno approvato lo studio.

Gruppo asmatici

La diagnosi e la severità dell'asma è stata stabilita secondo i criteri dell'American Thoracic Society.[14] Lo stato atopico è stato confermato dal prick-test cutaneo per i comuni aeroallergeni (cioè acari, graminacee, *Aspergillus fumigatus* e pelo di gatto) [ALK Abello; Horsholm, Danimarca]. La severità dell'asma è stata classificata secondo le linee guida del National Heart, Lung, and Blood Institute.[15] I bambini con asma lieve intermittente (5 bambini) avevano dei sintomi meno frequenti di una settimana e non stavano assumendo nessun farmaco regolarmente, ma usavano un $ß_2$-agonista inalatorio al bisogno, per alleviare il sintomo. I bambini con asma lieve persistente (quattro bambini) avevano dei sintomi più frequenti ma non quotidiani ed era stata loro prescritta una terapia con corticosteroidi inalatori (budesonide, da 0,2 a 0,4 mg; fluticasone propionato, da 0,1 a 0,2) regolarmente (iniziando da 2 a 4 mesi prima di entrare nello studio). I bambini con asma moderata-severa persistente (11 bambini) avevano dei sintomi quotidiani e stavano assumendo degli steroidi inalatori ad alta dose regolarmente (budesonide > 0,4 mg/die; fluticasione propionato > 0,2 mg/die).

Gruppo CF

I bambini con CF erano stati diagnosticati sulla base dei sintomi tipici della patologia, due mutazioni del gene CF e un risultato patologico del test del sudore (cioè una concentrazione del cloro nel sudore > 60 mmol/L).[16] Dieci bambini sono stati studiati durante un'esacerbazione della loro patologia polmonare, che è stata diagnosticata secondo i criteri convenzionali,[17] e gli altri 10 bambini erano stabili. Tutti i bambini erano cronicamente infettati con *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aures* o entrambi. Criteri addizionali di esclusione sono stati la concomitanza di asma bronchiale, la terapia concomitante con steroidi orali ed una coltura dell'escreato positiva per *Burkholderia cepacia.*

Funzione polmonare

La spirometria (Erich Jaeger; Market Harborough, UK) è stata eseguita entro un giorno dalla raccolta dell'EBC. Il migliore valore di tre tentativi è stato espresso come percentuale del normale valore teorico.

ECB

L'ECB è stato raccolto usando un condensatore autorizzato per la raccolta non invasiva dei componenti non gassosi dell'aria espirata (EcoScreen; Jager; Wurzburg, Germany), come precedentemente descritto.[18]

Analisi

Una specifica determinazione immuno-enzimatica (Cayman Chemical; Ann Arbor, MI) è stata usata per misurare l'LTB_4 nell'ECB. La variabilità intra-campione e tra campioni è stata < 10%. La specificità è stata del 100% ed il limite di rilievo del campione è stato di 3 pg. Uno specifico kit immuno-enzimatico (Cayman Chemical) è stato usato per misurare le concentrazioni di 8-isoprostano nel ECB. La variabilità tra le misure e intramisura è stata di ± 5% e del 6% rispettivamente. Il limite di rilevabilità della misura è stata di 4 pg/ml. La riproducibilità di ripetute misure di LTB4 e 8-isoprostano è stata valutata dal metodo Bland-Altman e dal coeficente di variazione.[19]

Misura del pH

Un pH stabile è stato ottenuto in tutti i casi dopo una deareazione/decarbonazione dei campioni di ECB dopo averli ribolliti con argon (350 mL/min) per 10 minuti, come precedentemente descritto.[20] Il pH è stato quindi misurato tramite un pH-metro (Jenway-350; Jenway; Gransomore Green, UK) con un range di pH da 0,00 a 14,00 ed una media di risoluzione/precisione nell'ordine di 0,01 ± 0,02 pH. La riproducibilità delle ripetute misure di pH è stata confermata dal test Bland-Altman e dal coefficiente di variazione.

Analisi statistica

I dati sono espressi come la media ± SEM. I tests di Mann-Whitney sono stati usati per confrontare i gruppi e le correlazioni tra le variabili sono state eseguite con il test di correlazione di Bland-Altman. La significatività è stata definita con $p < 0,05$.

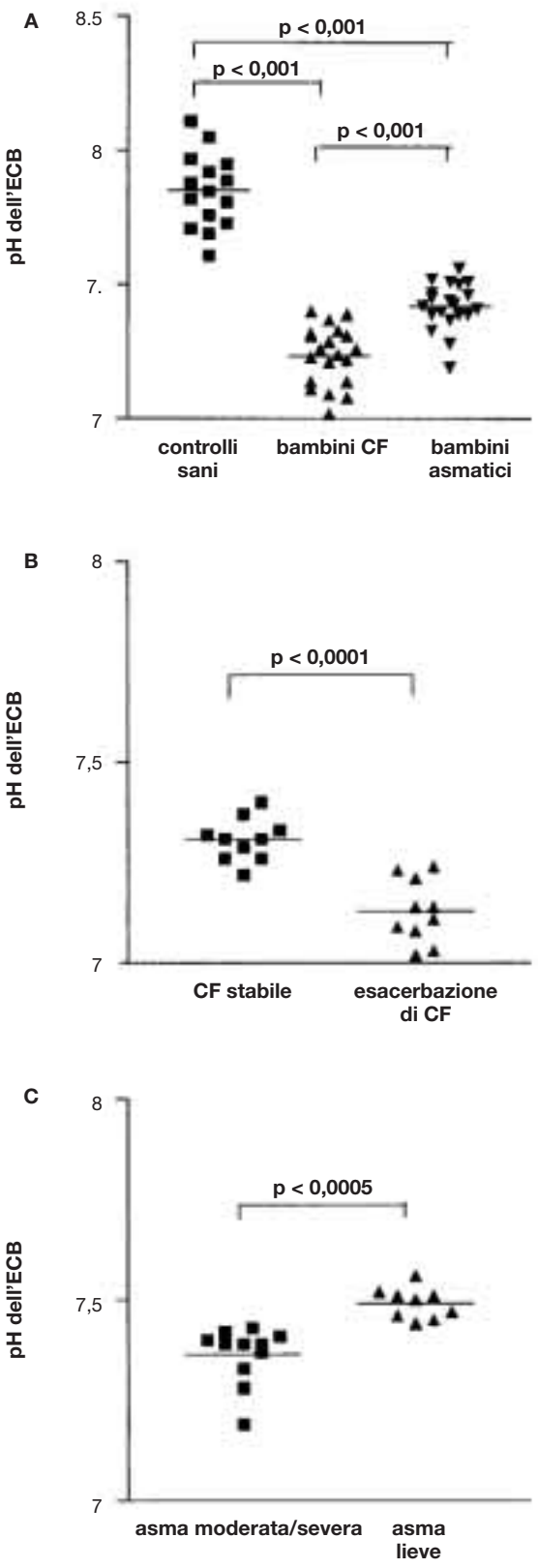

FIGURA 1. *In alto*, A: pH dell'ECB in bambini con CF, bambini con asma e soggetti sani di controllo. *In mezzo*, B: pH dell'ECB di bambini CF con riacutizzazione respiratoria della loro patologia ed in condizioni stabili. *In basso*, C: pH dell'ECB di bambini con asma moderata-severa e bambini con asma lieve.

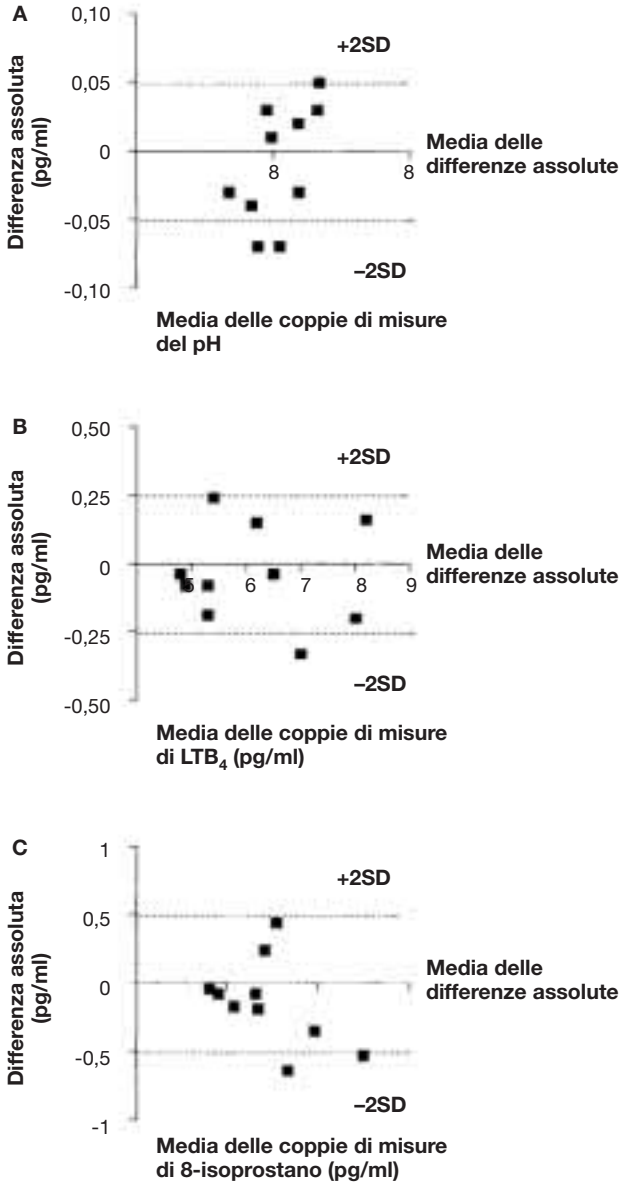

FIGURA 2. Il grado di riproducibilità tra due misure successive di pH (*in alto*, A), concentrazione di LTB_4 (*in mezzo*, B) e concentrazione di 8-isoprostano (*in basso*, C) nel condensato del respiro esalato di soggetti sani usando il metodo di Bland-Altman.

RISULTATI

pH dell'ECB

Il pH dell'ECB era più basso nei bambini con CF rispetto ai soggetti sani di controllo (7,23 ± 0,03 vs 7,85 ± 0,02 rispettivamente; $p < 0,0001$) [Fig. 1, *in alto*, A]. Il pH dell'ECB dei pazienti con CF con un'esacerbazione era significativamente più basso di quello dei pazienti stabili con CF (7,12 ± 0,02 vs 7,31 ± 0,01 rispettivamente; $p < 0,0001$) [Fig. 1, *in mezzo*, B]. Il pH dell'ECB era più basso nei bambini con asma confrontato con i soggetti sani di controllo

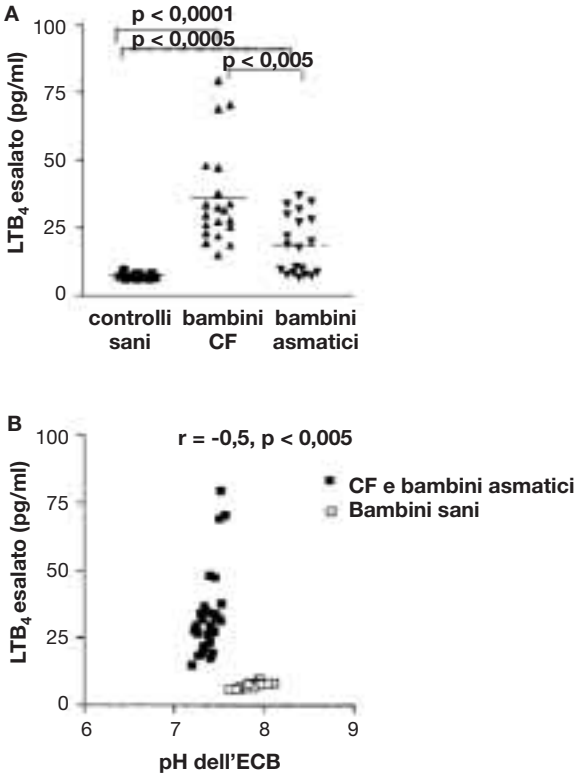

FIGURA 3. *In alto*, A: concentrazioni di LTB_4 nel condensato del respiro esalato di bambini con CF, bambini con asma e soggetti sani di controllo. *In basso*, B: correlazione tra pH esalato e concentrazioni di LTB_4.

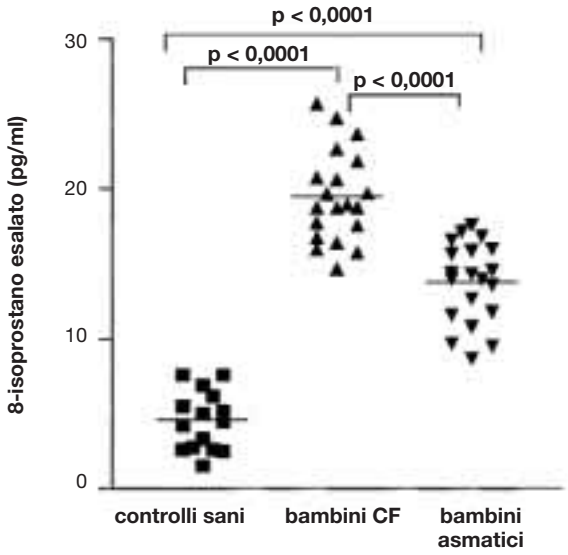

FIGURA 4. Concentrazioni di 8-isoprostano nell'ECB di bambini con CF, bambini con asma e soggetti sani di controllo.

(7,42 ± 0,01 vs 7,85 ± 0,02 rispettivamente; $p < 0,0001$) [Fig. 1, *in alto*, A]. Un pH più basso è stato osservato nei bambini con asma severa e moderata confrontato con quelli con asma lieve (7,36 ± 0,02 vs 7,49 ± 0,01 rispettivamente; $p < 0,0005$) [Fig. 1, *in basso*, C]. Nessuna correlazione è stata osservata tra il pH dell'esalato, FEV_1 e FVC. La riproducibilità delle misure del pH dell'ECB è stata verificata in 10 adulti sani non fumatori (sei maschi; età media 35 ± 7 anni). La differenza media tra le due misure è stata – di 0,01 ± 0,4. Il coefficiente di variazione per il pH dell'ECB è stato di 0,4% (Fig. 2, *in alto*, A).

LTB_4 esalato

Il LTB_4 è stato misurabile nell'ECB di tutti i soggetti. Le concentrazioni di LTB_4 erano significativamente aumentate nei bambini con CF confrontate con i soggetti sani di controllo (35,9 ± 4,1 vs 7,4 ± 0,3 pg/mL rispettivamente; $p < 0,0001$) [Fig. 3, *in alto*, A]. Un significativo incremento dei livelli di LTB_4 è stato osservato nei bambini con un'esacerbazione acuta di CF (47,8 ± 5,9 pg/mL) confrontato con i bambini con una CF stabile (24,2 ± 1,8 pg/mL; $p < 0,0005$). I bambini asmatici avevano livelli più elevati di LTB_4 confrontati con i soggetti sani di controllo (18,8 ± 2,4 vs 7,4 ± 0,3 pg/mL, rispettivamente; $p < 0,0001$) [Fig. 3, *in alto*, A]. Confrontati con i bambini sani, livelli più elevati di LTB_4 sono stati osservati nei bambini con asma severa e moderata, ma non nei bambini con asma lieve (27,2 ± 2,1 e 8,4 ± 0,4 pg/mL rispettivamente; $p < 0,0005$). C'è stata una correlazione negativa tra il pH dell'ECB ed i valori di LTB_4 nei bambini sani, nei bambini con CF e nei bambini asmatici ($r = – 0,5$; $p < 0,005$) [Fig. 3, *in basso*, B]. La riproducibilità delle misure di LTB_4 esalato è stata determinata in 10 soggetti sani non fumatori (sei maschi; età media 35 ± 7 anni). La differenza media tra le due misure è stata di – 0,04 ± 0,18 pg/mL. Il coefficiente di variazione per l'LTB_4 misurato è stato del 2,0% (Fig. 2, *in mezzo*, B).

8-isoprostano esalato

L'8-isoprostano esalato è stato misurabile nell'ECB di tutti i soggetti ed i livelli di 8-isoprostano erano significativamente aumentate nei bambini con CF ed asma confrontate con quelli dei soggetti sani di controllo (19,5 ± 0,7 e 13,8 ± 0,6 vs 4,6 ± 0,5 pg/mL rispettivamente; $p < 0,0001$ e $p < 0,0001$) [Fig. 4]. Nessuna correlazione è stata osservata tra il pH esalato ed i livelli di 8-isoprostano nell'ECB. La riproducibilità delle misure di 8-isoprostano è stata determinata in 10 soggetti sani non fumatori. La differenza media tra le due misure è stata di – 0,14 ± 0,32 pg/mL. Il coefficiente di variazione per l'8-isoprostano misurato è stato del 4,4% (Fig. 2, *in basso*, C).

Discussione

Le più importanti conclusioni di questo studio sono state l'esistenza di un pH più basso nell'ECB dei bambini con CF confrontato con quello dei bambini asmatici. Entrambi i gruppi avevano un pH dell'ECB più basso rispetto a quello dei soggetti di controllo. Le concentrazioni nell'ECB di LTB_4 e 8-isoprostano erano più alte nella CF e nei bambini asmatici confrontati con i soggetti sani di controllo. Inoltre, i livelli di pH e LTB_4 nell'ECB erano correlati alla severità dell'asma ed alla presenza di un'esacerbazione di CF. Non c'è stata alcuna correlazione tra il pH dell'ECB, il livello di 8-isoprostano e la funzionalità polmonare.

I valori di pH osservato nel nostro gruppo di bambini di controllo erano leggermente più alti di quelli riportati negli adulti da Kostikas et al.[13] e da Tate et al.,[20] che può essere un effetto dell'età o più essere dovuto all'uso di diversi dispositivi di raccolta. Può anche essere possibile che gli adulti abbiano un pH più basso per l'esposizione a lungo termine all'inquinamento dell'aria e/o al fumo di sigaretta, che può determinare un'infiammazione cronica delle vie aeree di basso grado, riflessa dall'acidità del loro ECB.

Deve essere riconosciuto che l'interpretazione del pH dell'ECB è controversa e che anche il livello del pH delle vie aeree nei pazienti con CF è ancora dibattuto. Effros et al.[21] hanno suggerito che il pH dell'ECB è stato determinato dalla misura nella cavità orale, sulla base di misure eseguite in pazienti tracheostomizzati. È difficile da comprendere come variazioni nella cavità orale possano rendere conto dei risultati, almeno nei bambini con differente severità dell'asma. Anche se è stato riscontrato un basso pH nelle vie aeree nei bambini con asma e fibrosi cistica,[13,20,22] le misure dirette del pH nasale e delle vie aeree nei bambini con CF usando un elettrodo d'oro erano identiche ai risultati nei soggetti di controllo.[23] Precedenti risultati contraddittori[24] erano stati attribuiti ad artefatti causati dalle variazioni della differenza di potenziale trans-epiteliale, che era stata determinata usando l'elettrodo di antimonio. Tuttavia, tutte queste misure sono state eseguite in relativamente pochi siti delle generazioni periferiche delle vie aeree, mentre è probabile che l'ECB possa riflettere le vie aeree più distali, dove c'è una più grande area di superficie epiteliale.

È più probabile che il pH più basso delle vie aeree degli adulti e dei bambini con CF ed asma sia dovuto all'infiammazione delle vie aeree, per esempio alla presenza di neutrofili.[13] La mieloperossidasi, che è rilasciata nel lume delle vie aeree dai granuli dei neutrofili, catalizza una reazione tra il perossido d'idrogeno e gli ioni cloro per formare acido ipocloroso.[25] Questo acido altamente volatile è stato presupposto che sia il responsabile dell'acidificazione dell'ECB nei pazienti stabili con BPCO e bronchiettasie.[13]

Possono essere importanti altri meccanismi. Le vescicole dei macrofagi e degli eosinofili contengono dei vacuoli di trofosfatasi idrogeno-adenosina, che è responsabile di un aumento del rilascio di H+,[26,27] ed i granuli di eosinofili contengono la perossidasi eosinofilica che, in presenza di H_2O_2, è in grado di ossidare per formare acidi altamente reattivi.[28] Questi meccanismi possono giustificare la relazione che noi abbiamo osservato tra la gravità della patologia ed il pH. Tuttavia, è necessario uno studio longitudinale nei bambini per fornire più evidenza a questo legame. Il possibile legame tra il pH dell'ECB e l'infiammazione delle vie aeree è sostenuto anche dallo studio di Hunt et al.,[22] che ha osservato una normalizzazione dei valori di pH dell'ECB nei soggetti asmatici dopo un trattamento anti-infiammatorio.

Noi abbiamo osservato valori significativamente più elevati di LTB_4 chemiotattico per i neutrofili sia nei bambini con asma moderata-severa e CF che nei soggetti sani. Al contrario, valori normali di questo marker sono riscontrati nell'asma lieve. Questi risultati forse riflettono differenti quadri infiammatori in pazienti con asma di differenti severità, anche se questo rimane una congettura perché non abbiamo osservato la citologia delle vie aeree con lo sputo indotto. La presenza di infiammazione neutrofila è stata ben descritta in persone con CF e questo può giustificare la presenza di alti livelli di LTB_4 nell'ECB.[20]

Noi riteniamo che la correlazione travata tra i valori di LTB_4 nel ECB ed il pH dell'ECB nei soggetti di controllo, nei bambini con CF e nei bambini con asma moderata e severa possa suggerire che il pH dell'ECB sia un indice dell'infiammazione neutrofila. Tuttavia, ulteriori studi in cui siano eseguite e correlate con il pH dell'ECB la conta differenziata cellulare dello sputo e le misure di altri chemiotattici per i neutrofili, come ad esempio l'IL-8, sono necessari per confermare questa ipotesi. È inspiegabile il fatto che sia stata osservata una correlazione nei soggetti di controllo ma non nei bambini con lieve asma bronchiale.

Noi abbiamo anche determinato se vi era un legame tra lo stress ossidativo, misurato con l'8-isoprostano ed il pH dell'ECB. Coerentemente con altri studi, noi abbiamo osservato concentrazioni più alte nell'ECB di 8-isoprostano nei bambini con CF e asma confrontate con quelle dei soggetti sani di controllo, confermando la presenza di uno stress ossidativo nelle vie aeree. Tuttavia, in contrasto con altri studi, non abbiamo osservato una correlazione tra i livelli di 8-isoprostano ed i valori del pH.[13,29,30] Non siamo in grado di giustificare questa discrepanza. I nostri risultati suggeriscono, forse, che questi marcatori riflettono due differenti meccanismi patogenetici, sottolineando il fatto che un singolo "infiammatometro" è improbabile che dia mai la vera immagine della patologia infiammatoria delle vie aeree.

Noi abbiamo anche trovato che non c'è correlazione tra il pH ed i valori di LTB_4 ed i valori di FEV_1 e FVC, confermando che il valore della funzionalità polmonare è generalmente molto povero come predittore dell'infiammazione attiva. È probabile che il pH del ECB ed i livelli di LTB_4 riflettano l'intensità dell'infiammazione in atto, mentre i test di funzionalità polmonare siano almeno in parte correlati al danno polmonare a lungo termine.

In conclusione, noi crediamo che il pH del ECB possa essere un utile marcatore dell'infiammazione delle vie aere nei bambini con asma e CF. È vantaggioso il fatto che questo marcatore possa essere misurato in un modo semplice, non-invasivo, economico e riproducibile. Inoltre, la velocità di questa misura (ossia, i valori possono essere ottenuti entro 10 minuti dalla misura dell'ECB), confrontata ad altri test che richiedono 2 o 3 giorni, può consentirci di incoraggiare il suo futuro uso nel monitoraggio della patologia respiratoria. Ulteriori studi, tuttavia, sono necessari per le seguenti ragioni: (1) validare la misura del pH nell'ECB; (2) espandere la misura del pH dell'ECB a differenti popolazioni di pazienti ed a differenti patologie cliniche; ed infine (3) determinare il posizionamento della misura del pH dell'ECB nella pratica clinica per la diagnosi ed il monitoraggio delle malattie respiratorie infiammatorie.

RINGRAZIAMENTO: Il Dott. Carpagnano ringrazia sentitamente il Professor P. Capezzuto per la sua esperta assistenza tecnica.

Bibliografia

1 Rees J, Price J. ABC of asthma. London, UK: BMJ Publishing Group, 1996
2 Osika E, Cavaillon JM, Chadelat K, et al. Distinct sputum cytokine profiles in cystic fibrosis and other chronic inflammatory airway disease. Eur Respir J 1999; 14:339–346
3 Jobsis Q, Raatgeep HC, Schellekens SL, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide in exhaled air of children with cystic fibrosis during antibiotic treatment. Eur Respir J 2000; 16:95–100
4 Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of inflammation. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2001; 1:217–224
5 Balint B, Kharitonov SA, Hanazawa T, et al. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate in cystic fibrosis. Eur Respir J 2001; 17:1201–1207
6 Corradi M, Montuschi P, Donnelly LE, et al. Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. Am J Respir Crit Care Med 2001; 163:854–858
7 Ho LP, Innes JA, Greening AP. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. Thorax 1998; 53:680–684
8 Csoma Z, Kharitonov SA, Balint B, et al. Increased leukotrienes in exhaled breath condensate in childhood asthma. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166:1345–1349
9 Carpagnano GE, Kharitonov SA, Resta O, et al. Increased 8-isoprostane and interleukin-6 in breath condensate of obstructive sleep apnea patients. Chest 2002; 122:1162–1167
10 Scheiderler L, Manke HG, Schwulera U, et al. Detection of non-volatile macromolecules in breath: a possible diagnostic tool? Am Rev Respir Dis 1993; 148:778–784
11 Cunningham S, McColm JR, Ho LP, et al. Measurement of inflammatory markers in the breath condensate of children with cystic fibrosis. Eur Respir J 2000; 15:955–957
12 McRae K, De Perrot M, Fischer S, et al. Detection of IL-10 in the exhaled breath condensate, plasma and tissue during ischemia-reperfusion injury in experimental lung transplantation [abstract]. J Heart Lung Transplant 2001; 20:184
13 Kostikas K, Papatheodorou G, Ganas K, et al. PH in Expired breath condensate of patients with inflammatory airway diseases. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165:1364–1370
14 American Thoracic Society. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. Am Rev Respir Dis 1987; 136:225–244
15 National Asthma Education and Prevention Program. Expert panel report 2: guidelines for the diagnosis and management of asthma. Bethesda, MD: National Institutes of Health, April 1997; Publication No. 97–4051
16 National Committee for Clinical Laboratory Standards. Sweat testing: sample collection and quantitative analysis; approved guidelines. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1994; Document No. C34-A
17 Fuchs HJ, Borowitz DS, Christiansen DH, et al. Effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and on pulmonary function in patients with cystic fibrosis: the Pulmozyme Study Group. N Engl J Med 1994; 331:637–642
18 Montuschi P, Corradi M, Ciabattoni G, et al. Increased 8-isoprostane, a biomarker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. Am J Respir Crit Care Med 1999; 160:216–220
19 Bland JM, Altman DG. Statistics Measurement error. BMJ 1996; 313:744
20 Tate S, MacGregor G, Davis M, et al. Airways in cystic fibrosis are acidified: detection by exhaled breath condensate. Thorax 2002;57:926–929
21 Effros RM, Hoagland KW, Bosbous M, et al. Dilution of respiratory solutes in exhaled condensates. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165:663–669
22 Hunt JF, Fang K, Malik R, et al. Endogenous airway acidification: implications for asthma pathophysiology. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161:694–699
23 McShane D, Nicholson AG, Goldstraw P, et al. Inflammatory endobronchial polyps in childhood: clinical spectrum and possible link to mechanical ventilation. Pediatr Pulmonol 2002; 34:79–84
24 McShane D, Davies JC, Davies MG, et al. Airway surface pH in subjects with cystic fibrosis. Eur Respir J 2003; 21:37–42
25 Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative Stress Study Group: oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease: state of the art. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156:341–357
26 Kurashima K, Numata M, Yachie A, et al. The role of vacuolar H()-ATPase in the control of intragranular pH and exocytosis in eosinophils. Lab Invest 1996; 75:689–698
27 Chavalittamrong B, Angsusingha K, Tuchinda M, et al. Diagnostic significance of pH, lactic acid dehydrogenase, lactate and glucose in pleural fluid. Respiration 1979; 38:112–120
28 Adolphson CR, Gleich GJ. Eosinophils. In: Holgate ST, Church MK, eds. Allergy. London, UK: Mosby-Wolfe, 1995; 6.1–6.12
29 Montuschi P, Corradi M, Ciabattoni G, et al. Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. Am J Respir Crit Care Med 1999; 160:216–220
30 Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattoni G, et al. Exhaled 8-isoprostane as a new non-invasive biomarker of oxidative stress in cystic fibrosis. Thorax 2000; 55:205–209