

Anna Kowalska<sup>1</sup>, Elżbieta Puścińska<sup>1</sup>, Justyna Czerniawska<sup>1</sup>, Anna Goljan-Geremek<sup>1</sup>,  
Monika Czystowska<sup>1</sup>, Adriana Roży<sup>2</sup>, Joanna Chorostowska-Wynimko<sup>2</sup>, Dorota Górecka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>II Klinika Chorób Płuc, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. D. Górecka

<sup>2</sup>Laboratorium Diagnostyki Molekularnej, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Kierownik: doc. dr hab. n. med. J. Chorostowska-Wynimko

## Markery włóknienia i zapalenia w kondensacie powietrza wydechane (EBC) oraz w płynie z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BALF) u chorych na sarkoidozę płuc — badanie pilotażowe

Markers of fibrosis and inflammation in exhaled breath condensate (EBC) and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of patients with pulmonary sarcoidosis — a pilot study

### Abstract

**Introduction:** Sarcoidosis is a disease of unknown etiology. Little is known of predictive factors of fibrosis. It was suggested that PAI-1, uPA, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$  influence this process.

**Aims:** To assess airway inflammatory and fibrosis markers in EBC in sarcoidosis and the effect of fiberoptic bronchoscopy (FOB), bronchoalveolar lavage fluid (BALF), transbronchial lung biopsy (TBLB) and bronchial mucosa membrane biopsy on their production in the airways.

**Material and methods:** The study group consisted of 11 patients (5 women, 6 men; mean age  $40 \pm 9$  yrs, mean  $\pm$  SD) with sarcoidosis stage I–III. PAI-1 (ng/ml), uPA (ng/ml), TGF- $\beta$ 1 (pg/ml), VEGF (pg/ml), IL-8 (pg/ml), TNF- $\alpha$  (pg/ml) levels were measured in BALF and EBC collected before and 48 hours after FOB.

**Results:** No significant changes in EBC levels of VEGF, PAI-1, TGF- $\beta$ 1, TNF- $\alpha$  (respectively:  $8.02 \pm 4.97$  pg/ml;  $1.1 \pm 1.2$  ng/ml;  $2909.7 \pm 206.6$  pg/ml;  $10.7 \pm 19.9$  pg/ml) after FOB were observed when compared to baseline. In contrast, IL-8 concentration in EBC (pg/ml) decreased after FOB ( $0.073 \pm 0.13$  v.  $0.061 \pm 0.1$ ,  $p = 0.006$ ) and was significantly lower than in BALF (BALF  $0.95 \pm 0.62$ ,  $p < 0.05$ ). Also, mean level of VEGF was higher in BALF than in EBC both pre- and post-FOB (BALF  $66.38 \pm 36.95$ , EBC pre-FOB  $6.75 \pm 3.67$  and EBC post-FOB  $8.02 \pm 4.97$ ). Significant relationship between TNF- $\alpha$  in post-FOB EBC and BALF was also shown ( $\beta = 0.63$ ,  $p = 0.04$ ).

**Conclusions:** FOB does not significantly affect levels of airway inflammation and fibrosis markers present in EBC before and after FOB; they were also comparable to the concentrations marked by BALF. The lack of correlation between markers levels in EBC and BALF indicates that these methods are not equivalent. Due to repeatability, and less invasive, simple method of EBC test it seems reasonable to continue the research on the larger number of patients.

**Key words:** sarcoidosis, exhaled breath condensate, fiberoptic bronchoscopy, PAI-1, uPA, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$

**Pneumonol. Alergol. Pol. 2010; 78, 5: 356–362**

**Adres do korespondencji:** dr n. med. Anna Kowalska, II Klinika Chorób Płuc Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie, ul. Płocka 26, 01–138 Warszawa, tel.: 22 431 21 44, faks: 22 431 24 54, e-mail: ruann@o2.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 15.02.2010 r.

Copyright © 2010 Via Medica

ISSN 0867–7077

## Streszczenie

**Wstęp:** Sarkoidoza to choroba o nieznannej etiologii. Nieznane są także czynniki rokownicze włóknienia. Uważa się, że PAI-1, uPA, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$  mogą mieć związek z tym procesem.

**Cel:** Głównym celem badania było określenie, czy markery włóknienia i zapalenia mogą być oznaczane w EBC pozyskiwanym od pacjentów z sarkoidozą oraz czy na stężenia tych markerów wpływają procedury diagnostyczne, takie jak: bronchofiberoskopia (FOB), płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL), biopsja przezoskrzelowa płuc (TBLB) czy biopsja śluzówki oskrzeli.

**Materiał i metody:** Do badania zakwalifikowano 11 pacjentów (5 kobiet oraz 6 mężczyzn), w średnim wieku  $40 \pm 9$  lat, średnia  $\pm$  SD) z sarkoidozą płuc w stadium I–III. Pomiarów PAI-1, uPA, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$  dokonano w BALF oraz w EBC pozyskiwanym przed i 48 godzin po FOB.

**Wyniki:** Nie zaobserwowano istotnych zmian w stężeniach VEGF, PAI-1, TGF- $\beta$ 1, TNF- $\alpha$  w EBC po FOB (odpowiednio:  $8,02 \pm 4,97$  pg/ml;  $1,1 \pm 1,2$  ng/ml;  $2909,7 \pm 206,6$  pg/ml;  $10,7 \pm 19,9$  pg/ml). W odróżnieniu od tego, stężenie IL-8 w EBC (pg/ml) było nieco niższe po FOB ( $0,073 \pm 0,13$  v.  $0,061 \pm 0,1$ ,  $p = 0,006$ ) i znacznie niższe niż w BALF (BALF  $0,95 \pm 0,62$ ,  $p < 0,05$ ). Stężenie VEGF także było wyższe w BALF niż w EBC zarówno przed, jak i po FOB (BALF  $66,38 \pm 36,95$ , EBC przed FOB  $6,75 \pm 3,67$  i EBC po FOB  $8,02 \pm 4,97$ ). Zaobserwowano znaczącą korelację pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w EBC po FOB oraz w BALF ( $\beta = 0,63$ ,  $p = 0,04$ ).

**Wnioski:** Nie wykazano istotnego wpływu FOB i innych analizowanych procedur diagnostycznych na stężenie markerów włóknienia i zapalenia oznaczane w EBC przed i po FOB, były one również porównywalne ze stężeniami oznaczanymi w BALF. Brak korelacji pomiędzy parametrami analizowanymi w EBC i BALF wskazuje, że metody te nie mogą być uważane za równoważne, jednak ze względu na powtarzalność, nieinwazyjność i prostą metodykę wykonania badania EBC wydaje się celowym kontynuowanie badań wśród większej liczby pacjentów.

**Słowa kluczowe:** sarkoidoza, kondensat powietrza wydychanego, bronchofiberoskopia, PAI-1, uPA, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$   
**Pneumonol. Alergol. Pol. 2010; 78, 5: 356–362**

## Wstęp

Sarkoidoza to wielonarządowa choroba o nieznannej etiologii, przebiegająca z wytworzeniem charakterystycznych ziarniniaków zapalnych z limfocytów, komórek nabłonkowatych i olbrzymich. Najczęściej zajęte w jej przebiegu są płuca i/lub węzły chłonne śródpiersia i wnęk [1].

W około 75% przypadków choroby ulega samoograniczeniu i spontanicznej lub indukowanej lekami regresji, w pozostałych przypadkach przechodzi w formę przewlekłą. Niekorzystny przebieg choroby w postaci postępującego włóknienia płuc prowadzącego do niewydolności oddychania i znacznego pogorszenia jakości życia pacjentów obserwuje się u około 5–10%.

Nieznane są niestety czynniki rokownicze takiego procesu. Ostatnie, wielośrodkowe badania nad patomechanizmem włóknienia wskazują na istotną rolę w tym procesie niektórych cytokin i czynników wzrostu, jak: transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1, *transforming growth factor*  $\beta$ 1), naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), interleukina 8 (IL-8, *interleukin 8*), czynnik martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , *tumor necrosis factor*  $\alpha$ ), a także czynników układu krzepnięcia (fibrynolitycznych i antyfibrynolitycznych): inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1, *plasminogen activator inhibitor-1*) i aktywator plazminogenu typu urokinazy (uPA, *urokinase-plasminogen activator*) [2–4].

Do oceny zaawansowania i monitorowania przebiegu sarkoidozy, prócz badania klinicznego, wykorzystuje się metody radiologiczne (przeładowe badanie radiologiczne klatki piersiowej [RTG], tomografię komputerową wysokiej rozdzielczości [HRCT, *high resolution computed tomography*]), badania czynnościowe (spirometria, mechanika oddychania, 6-minutowy test chodu [6 MWT, *6 minute walk test*]) oraz ocenę profilu immunologicznego komórek uzyskanych z płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BALF, *bronchoalveolar lavage fluid*) podczas bronchofiberoskopii (FOB, *fiberoptic bronchoscopy*) [5].

Głównym celem pracy było określenie, czy możliwe jest oznaczenie wybranych potencjalnych markerów zapalenia i włóknienia w materiale pobranym za pomocą metody nieinwazyjnej — w kondensacie powietrza wydychanego (EBC, *exhaled breath condensate*). Oceniono również, w jakim stopniu inwazyjne procedury diagnostyczne wykonywane w drogach oddechowych — bronchofiberoskopia, BALF, instrumentacje związane z pobieraniem materiału diagnostycznego, to jest biopsja przezoskrzelowa płuc (TBLB, *transbronchial lung biopsy*), biopsja śluzówki oskrzeli — wpływają na stężenie tych markerów w EBC.

## Materiał i metody

Do badania zakwalifikowano chorych na sarkoidozę płuc — mężczyzn i kobiety w różnym stopniu zaawansowania choroby, hospitalizowanych

w II Klinice Chorób Płuc Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie. Kryteriami włączenia do badania były potwierdzenie sarkoidozy na podstawie badania histopatologicznego oraz brak leczenia farmakologicznego choroby (glikokortykosteroidy, leki immunosupresyjne) czy przyjmowania niesteroidowych leków przeciwzapalnych w ciągu ostatnich 3 miesięcy. Żaden z włączonych do badania chorych nie palił papierosów aktualnie ani w wywiadzie.

U wszystkich badanych sarkoidozę potwierdzono na podstawie badania histopatologicznego materiału pobranego z: biopsji śluzówki oskrzeli (1 osoba), biopsji przezoskrzelowej płuca (7 osób), węzłów chłonnych śródpiersia pobranych w trakcie mediastinoskopii (3 osoby).

Kondensat powietrza wydychanego pobierano w trakcie 10–15 minut spokojnego oddychania przy użyciu aparatu EcoScreen (Jaeger, Germany), według standardowego protokołu z użyciem klipsa nosowego [6]. Otrzymany materiał transportowano do laboratorium analitycznego w szczelnie zamkniętych, schłodzonych pojemnikach, a następnie przechowywano w temperaturze  $-70^{\circ}\text{C}$  do czasu wykonania oznaczeń.

Zgodnie z protokołem badania, EBC był gromadzony w godzinach rannych w dniu wykonania oraz 48 godzin po bronchofiberoskopii. Płukanie oskrzelowo-pęcherzykowe wykonywano rutynowo w ramach diagnostyki szpitalnej lub z powodów leczniczych przed wykonaniem innych procedur diagnostycznych. Płyn z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego transportowano do laboratorium w temperaturze  $+4^{\circ}\text{C}$  w szczelnie zamkniętych pojemnikach. Otrzymany materiał filtrowano przez gazę młyńską, a następnie wirowano ( $+4^{\circ}\text{C}$ , 400 g, 10 min). Nadśącz zamrażano w  $-70^{\circ}\text{C}$  do dalszych oznaczeń.

Pomiary stężeń PAI-1, uPA, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$  w BALF oraz w EBC wykonano metodą immunoenzymatyczną ELISA, stosując gotowe zestawy (American Diagnostica, USA: PAI-1 i uPA, BIOSOURCE, USA: TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$ ). Pomiaru gęstości optycznej dokonywano przy użyciu spektrofotometru Infinite M200 (Tecan, Australia). Stężenie badanych markerów wyrażone było w pg/ml (PAI-1, uPA) oraz ng/ml (TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$ ).

Wszyscy pacjenci wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu, które zostało zaakceptowane przez lokalną Komisję Bioetyczną.

### Analiza statystyczna

Analizę statystyczną uzyskanych danych przeprowadzono na podstawie programu Statistica, wersja 6.0. Do porównania zmian PAI-1, uPA, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$  w BALF i EBC wykorzystano nieparametryczne testy dla zmiennych powią-

zanych (test kolejności par Wilcozona) i niepowiązanych (test U Manna-Whitneya). Za znamienne przyjęto wartość  $p < 0,05$ .

### Wyniki

Do badania zakwalifikowano 11 chorych na sarkoidozę płuc: 5 kobiet (45,45%) oraz 6 mężczyzn (54,54%). Średnia wieku badanych pacjentów wynosiła  $40 \pm 9$  lat, zaś średni czas trwania choroby  $37 \pm 6$  miesięcy. Średnie stężenie enzymu konwertującego angiotensynę (ACE, *angiotensin-converting enzyme*) w surowicy w badanej grupie wynosiło  $84,5 \pm 49,1$  jm./ml, stosunek limfocytów CD4/CD8 w BALF —  $3,34 \pm 1,89$ .

Na podstawie przeglądowego badania RTG klatki piersiowej zakwalifikowano badane osoby do poszczególnych stadiów choroby: stadium I (1 pacjent), stadium II (9 pacjentów), stadium III (1 pacjent).

W tabeli 1 przedstawiono uzyskane wyniki pomiarów wskaźników zapalenia i włóknienia w EBC przed i po FOB z BALF oraz w BALF, w tabeli 2 uzyskane korelacje statystyczne, zaś na rycinach 1–5 graficznie wyniki dla poszczególnych markerów.

W EBC przed i po FOB stężenie uPA był nieoznaczalny. Średnie stężenie uPA w BALF wynosiło  $0,23 \pm 0,1$  ng/ml, mediana 0,209 (0,148–0,354). Stężenie IL-8 w EBC przed FOB było wyższe niż po FOB ( $0,073 \pm 0,13$  oraz  $0,061 \pm 0,1$ ,  $p = 0,006$ ) i znamienne wyższe w BALF niż w EBC (BALF  $0,95 \pm 0,62$ ,  $p < 0,05$ ) (ryc. 4). Stężenie VEGF było znamienne niższe w EBC niż w BALF (przed FOB  $6,75 \pm 3,67$ , po FOB  $8,02 \pm 4,97$  wobec BALF  $66,38 \pm 36,95$ ,  $p < 0,05$ ) (ryc. 5).

Wykazano korelację pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w EBC po bronchofiberoskopii oraz mierzoną w BALF ( $R = 0,832$ ,  $p = 0,004$ ) (ryc. 6). Nie zaobserwowano korelacji pomiędzy innymi badanymi markerami w BALF oraz w EBC.

### Dyskusja

Wiadomo, że sama bronchofiberoskopia oraz procedury diagnostyczne z nią związane mogą przyczyniać się do powstawania odczynu zapalnego w drogach oddechowych. W literaturze opisywane są, niezwiązane ze znieczuleniem czy premedykacją, powikłania FOB w postaci uszkodzenia błony śluzowej dróg oddechowych w trakcie pobierania bioptatu, a także gorączki — u 1,2% chorych, u których wykonywano samą FOB, oraz 10–30%, u których wykonywano FOB i BALF [7, 8].

W niniejszym badaniu FOB i wykonywane w jej trakcie procedury diagnostyczne (BALF, biopsja przezoskrzelowa płuc [TBLB, *transbronchial lung*

**Tabela 1. Wpływ inwazyjnych procedur diagnostycznych na stężenie wybranych markerów stanu zapalnego w EBC oraz BALF**  
**Table 1. The influence of invasive diagnostic procedures on inflammatory and fibrosis markers concentration in EBC and BALF**

Zmienna Variable		EBC przed FOB EBC before FOB	EBC po FOB EBC after FOB	BALF BALF
IL8 [pg/ml]	Średnia	0,073 ± 0,13	0,061 ± 0,1	0,95 ± 0,62*
	Mediana	0,03 (0,022–0,05)	0,032 (0,008–0,038)	0,726 (0,577–1,432)
VEGF [pg/ml]	Średnia	6,75 ± 3,67	8,02 ± 4,97	66,38 ± 36,95*
	Mediana	6,824 (3,643–9,544)	7,654 (4,288–12,772)	57,316 (42,704–97,38)
PAI-1 [ng/ml]	Średnia	0,9 ± 0,6	1,1 ± 1,2	1,5 ± 3,7
	Mediana	0,857 (0,411–1,259)	0,772 (0,357–1,087)	0 (0–0,788)
TGF-β1 [pg/ml]	Średnia	2871 ± 217,7	2909,7 ± 206,6	2820,1 ± 282
	Mediana	2960,48 (2628,24–3051,68)	2938,72 (2795,04–3016,56)	2875,08 (2608,56–2989,28)
TNF-α [pg/ml]	Średnia	3,74 ± 5,39	5,07 ± 6,45	10,5 ± 14,01
	Mediana	2,144 (0–6,092)	2,595 (0–10,041)	6,487 (1,918–13,488)
uPA [ng/ml]	Średnia	Nieoznaczalny	Nieoznaczalny	0,23 ± 0,1
	Mediana	Not detected	Not detected	0,209 (0,148–0,354)

\*p < 0,05 (BALF v. EBC)

**Tabela 2. Zależności pomiędzy parametrami analizowanymi w przebadanych materiałach**  
**Table 2. Relationship between parameters analysed in all examined materials**

Zmienna Variable	EBC przed FOB z BALF EBC before FOB and BALF		EBC po FOB z BALF EBC after FOB and BALF		EBC przed FOB z EBC po FOB EBC before FOB and EBC after FOB	
	R*	p	R*	p	R*	p
IL-8 [pg/ml]	-0,042	0,907	0,321	0,365	0,763	0,006
VEGF [pg/ml]	-0,272	0,445	0,018	0,960	0,163	0,630
PAI-1 [ng/ml]	0,007	0,983	0,037	0,918	-0,218	0,519
TGF-β1 [pg/ml]	0,406	0,244	0,272	0,445	0,318	0,340
TNF-α [pg/ml]	0,093	0,810	0,832	0,004	0,242	0,529

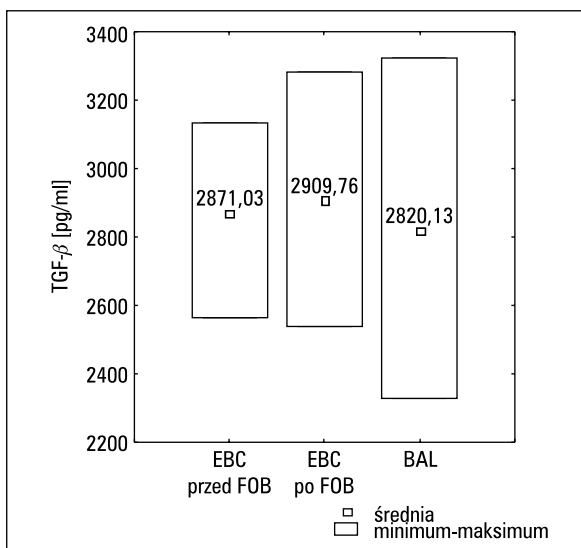
\*Spearman

biopsji] czy biopsja śluzówki oskrzeli) były niepokiwane, a przedstawione wstępne wyniki badania wydają się wskazywać, że mają one niewielki wpływ na stężenia badanych w BALF markerów.

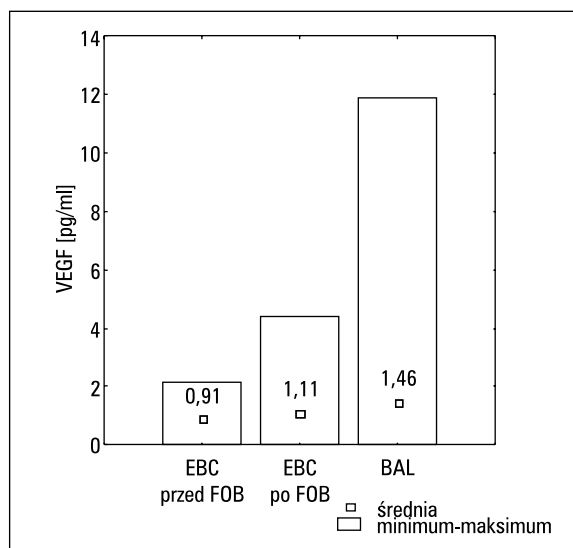
W dotychczas opublikowanych pracach naukowych badano w kondensacie powietrza wydychanego u pacjentów z sarkoidozą zawartość: IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, VEGF, PDGF-AA, EGF, eikozanoidów, leukotrienów, tlenku azotu (NO), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TGF-β1, TNF-α, PAI, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> [9–12]. Nie znaleziono doniesień o próbach oceny uPA w EBC. Jedyna praca analizująca wpływ bronchofiberoskopii i procedur diagnostycznych wykonywanych w jej trakcie na obecność cząstek aktywnych biologicznie w EBC dotyczy wpływu FOB na stężenie NO w powietrzu wydychanym. Podobnie jak w niniejszym badaniu, autorzy nie obserwowali w niej istotnego wpływu FOB i wykonanych w jej trakcie instrumentacji na stężenie NO w EBC [13].

Trudności w oznaczaniu stężenia uPA w EBC, które odnotowano w niniejszej pracy, mogą wynikać ze specyfiki pozyskiwania kondensatu. Wiadomo, że do frakcji gazowej — powietrza wydychanego przedostają się jedynie cząsteczki o masie molekularnej nie większej niż 100 kDa [14]. Tymczasem urokinazowy aktywator plazminogenu występuje w postaci nieaktywnej, jako prourokinazowy aktywator plazminogenu (pro-uPA) o masie 120 kDa, lub też w postaci kompleksów, między innymi z receptorem białkowym (uPAR) czy PAI-1. Masa molekularna monomeru uPA wynosi około 52–55 kDa. Stosunkowo nieduży monomer uPA łatwo łączy się więc z innymi cząsteczkami, tworząc kompleksy zbyt duże, aby dyfundować do frakcji gazowej [15].

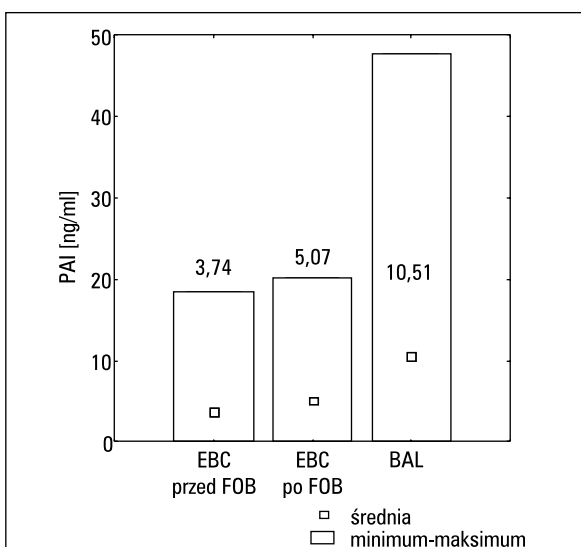
Przeprowadzone przez autorki pilotażowe badanie stężeń PAI-1, uPA, TGF-β1, VEGF, IL-8, TNF-α w materiałach uzyskanych z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego i kondensowania



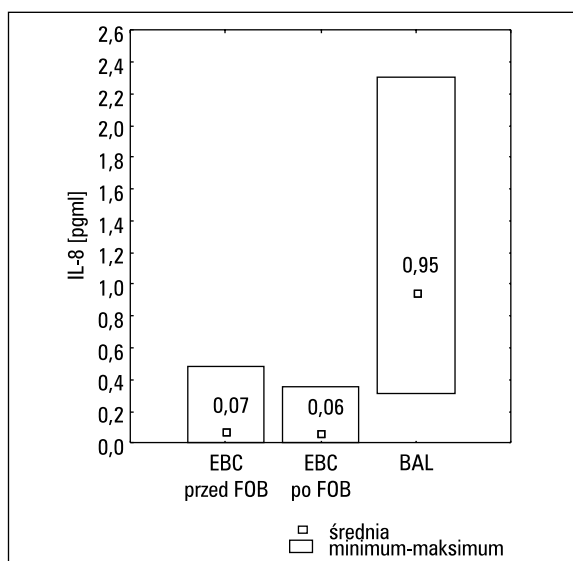
**Rycina 1.** Stężenie TGF- $\beta$  (pg/ml) w przebadanych materiałach  
**Figure 1.** TGF- $\beta$  (pg/ml) concentration in all examined materials



**Rycina 3.** Stężenie PAI (ng/ml) w przebadanych materiałach  
**Figure 3.** PAI (ng/ml) concentration in all examined materials



**Rycina 2.** Stężenie TNF- $\alpha$  (pg/ml) w przebadanych materiałach  
**Figure 2.** TNF- $\alpha$  (pg/ml) concentration in all examined materials

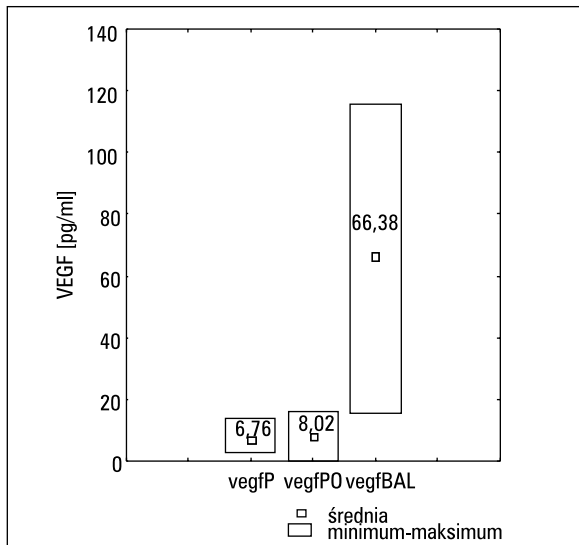


**Rycina 4.** Stężenie IL-8 (pg/ml) w przebadanych materiałach;  
 \* $p < 0,05$  (BALF v. EBC)  
**Figure 4.** Concentration IL-8 (pg/ml) in all examined materials;  
 \* $p < 0,05$  (BALF v. EBC)

powietrza wydychanego nie uzasadnia możliwości zastąpienia analizy aktywności czynników włóknienia i zapalenia w BALF oceną tych markerów w EBC. Jednakże liczebność badanej pilotażowo grupy pacjentów (11 osób) jest zbyt mała, by sformułować ostateczne wnioski. Warto natomiast podkreślić, że ze względu na potwierdzenie obecności markerów włóknienia i zapalenia (poza uPA) w powietrzu wydychanym oraz powtarzalność, małą inwazyjność, prostą metodykę i mniejsze koszty wykonania badania EBC, kontynuacja badań w większej grupie chorych jest w pełni uzasadniona.

## Wnioski

1. Możliwe jest oznaczanie PAI-1, TGF- $\beta$ 1, VEGF, IL-8, TNF- $\alpha$  w kondensacie powietrza wydychanego, uPA zaś nie dyfundował do frakcji gazowej.
2. Stężenia markerów włóknienia i zapalenia oznaczane w EBC przed i po FOB z BALF były porównywalne.



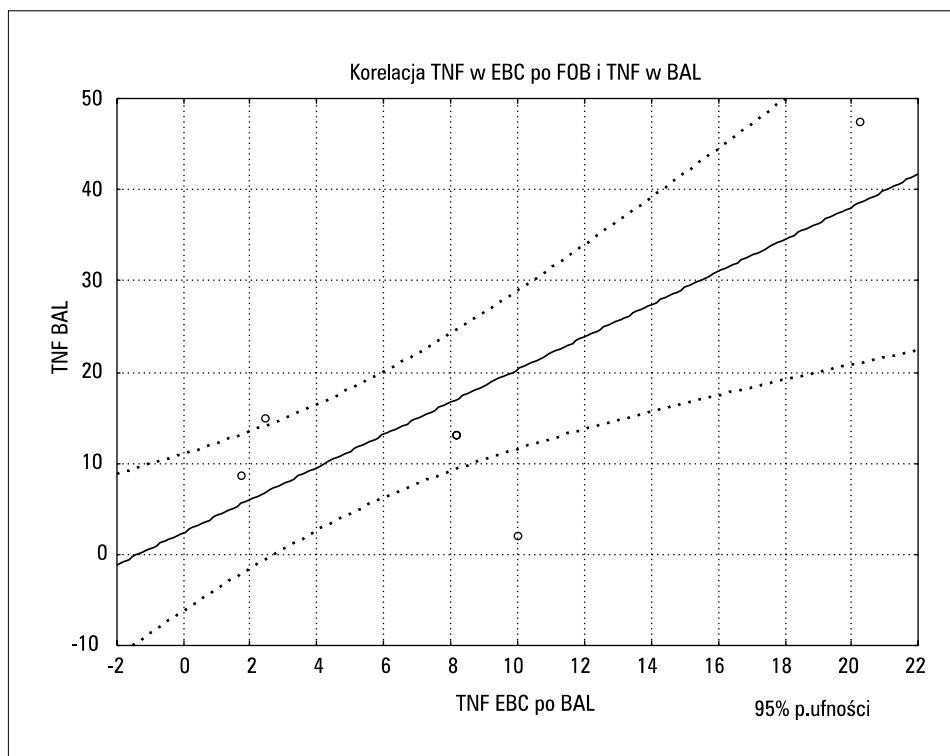
**Rycina 5.** Stężenie VEGF (pg/ml) w przebadanych materiałach; \*p < 0,05 (BALF v. EBC)

**Figure 5.** VEGF (pg/ml) concentration in all examined materials; \*p < 0.05 (BALF v. EBC)

3. Nie obserwowano wpływu FOB oraz związanych z nią procedur diagnostycznych na stężenia markerów włóknienia i zapalenia w badanych materiałach.

### Piśmiennictwo

1. Moller D.R. Cells and cytokines involved in the pathogenesis of sarcoidosis. *Sarcoid. Vasc. Diffuse Lung Dis.* 1999; 16: 24–31.
2. Chorostowska-Wynimko J., Roży A., Lewandowska K. i wsp. The coagulation and antifibrinolytic activities are increased in the bronchoalveolar lavage fluid from patients with progressing idiopathic pulmonary fibrosis. ERS Congress Berlin 2008, Abstract.
3. Geiser T. Idiopathic pulmonary fibrosis — a disorder of alveolar wound repair? *Swiss Med. Wkly* 2003; 133: 405–411.
4. Gharaee-Kermani M., Hu, B., Phan S.H., Gyetko M.R. The role of urokinase in idiopathic pulmonary fibrosis and implication for therapy. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 2008; 17: 905–916.
5. Sharma O.P., Alam S. Diagnosis, pathogenesis and treatment of sarcoidosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 1995; 1: 392–400.
6. Horvath I., Hunt J., Barnes P.J. i wsp. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur. Respir. J.* 2005; 26: 523–548.
7. Cradle W.F.J., Smiddy J.F., Elliott R.C. Complication of fiberoptic bronchoscopy. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1974; 109: 67–72.



**Rycina 6.** Znamiennej zależności pomiędzy stężeniem TNF- $\alpha$  w BALF oraz EBC uzyskanym po bronchofiberoskopii (R = 0,832; p = 0,004)

**Figure 6.** Significant correlation of TNF- $\alpha$  concentration in BALF and post-FOB EBC (R = 0.832, p = 0.004)

8. Krause A., Hohberg B., Heine F., John M., Burmester G.R., Witt C. Cytokines derived from alveolar macrophages induce fever after bronchoscopy and bronchoalveolar lavage. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 155: 1793–1797.
9. Kwiatkowska S., Łuczynska M., Grzelewska-Rzymowska I., Nowak D., Zięba M. Comparison of oxidative stress markers in exhaled breath condensate and in serum of patients with tuberculosis and sarcoidosis. *Pol. Merk. Lek.* 2005; 9: 37–40.
10. Roży A., Czerniawska J., Stępniewska B. i wsp. Inflammatory markers in the exhaled breath condensate of patients with pulmonary sarcoidosis. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2006; 57 (supl. 4): 335–340.
11. Wilsher M.L., Fergusson W., Milne W., Wells A.U. Exhaled nitric oxide in sarcoidosis. *Thorax* 2005; 60: 967–970.
12. Ziara D., Kałuska K., Kozielski J. An increase in exhaled nitric oxide is not associated with activity in pulmonary sarcoidosis. *Eur. Respir. J.* 2004; 24: 609–614.
13. Karczmarczyk G., Ziara D., Kozielski J. Influence of flexible bronchoscopy on the concentration of exhaled nitric oxide. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2007; 75: 236–240.
14. Scheideler L., Manke H.G., Schwulera U., Inacker O., Hammerle H. Detection of non-volatile macromolecules in breath. a possible diagnostic tool? *Am. Rev. Respir. Dis.* 1993; 148: 778–784.
15. Jarosz D.E., Morris L.D., Tighe W.J. uPA and tPA: PAI-1 complexes in serum and plasma. *ISOBM* 2002; 23 (supl. 1): 073.