

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**LAZER TEMELLİ BİYOMEDİKAL SENSÖRÜ VE GAZ KROMATOĞRAFİSİ
YÖNTEMLERİYLE HASTALIKLARIN TEŞHİSİ İÇİN NEFES ANALİZİ**

Hatice AKMAN

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. İsmail BAYRAKLI**

**DOKTORA TEZİ
ELEKTRONİK ve HABERLEŞME MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2017**



© 2017 [Hatice AKMAN]

TEZ ONAYI

Hatice AKMAN tarafından hazırlanan "**Lazer Temelli Biyomedikal Sensörü ve Gaz Kromatografisi Yöntemleriyle Hastalıkların Teşhisi için Nefes Analizi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Elektronik Haberleşme Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman **Yrd. Doç. Dr. İsmail BAYRAKLI**
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi **Yrd. Doç. Dr. Evren EKMEKÇİ**
Süleyman Demirel Üniversitesi



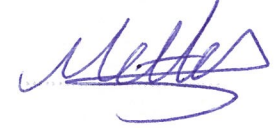
Jüri Üyesi **Yrd. Doç. Dr. Umut TILKI**
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi **Yrd. Doç. Dr. Övünç POLAT**
Akdeniz Üniversitesi



Jüri Üyesi **Yrd. Doç. Dr. Sedat METLEK**
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



Enstitü Müdürü **Prof. Dr. Yasin TUNCER**

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Hatice AKMAN



İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
2.1. Lazer Spektroskopisi.....	6
2.2. Lazer Frekansının Kararlılaştırılması.....	7
2.3. Nefes Analizi.....	8
2.3.1. OUAS Hastalarında Nefes Analizi.....	12
2.3.2. Nörolojik Hastalıkların Teşhisinde Nefes Analizi.....	13
2.3.2.1. Epilepsi ve epilepsi hastalığında kullanılan ilaçlar.....	13
2.3.2.2. Multiple skleroz (MS).....	15
2.3.2.3. Parkinson.....	16
3. MATERYAL YÖNTEM.....	17
3.1. Solunum Fizyolojisi.....	17
3.2. Lazerin Çalışma İlkesi.....	22
3.3. Lazer Frekansının Kararlılaştırılması.....	24
3.4. Nefes Analizinde Kullanılan Yöntemler.....	26
3.4.1. Optik yöntemler.....	26
3.4.1.1. ECL ve Dalga boyu ayarlanabilir lazer kaynağı (TDLAS; Tunable diode laser absorption spectroscopy).....	29
3.4.1.2. ICOS ve CEAS.....	30
3.4.1.3. CRDS.....	35
3.4.1.4. COMB.....	37
3.4.1.5. PAS.....	37
3.4.1.6. Algılama (Deteksiyon) limitleri.....	39
3.4.2. Analitik yöntemler.....	40
3.4.2.1. GC/MS.....	40
3.4.2.2. PTR/MS.....	41
3.4.2.3. SIFT/MS.....	42
3.4.2.4. Elektronik burun.....	42
3.4.2.5. Kolorimetrik analizler.....	43
3.4.2.6. EBC.....	43
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	45
4.1. OA-CEAS Lazer Sisteminin Kurulması.....	45
4.1.1. Eksensiz kavite destekli soğurma spektrometresi.....	51
4.2. Lazer Frekans Kararlılığının Sağlanması İçin PID İle Simulasyonu.....	59
4.3. OUAS Hastalarında Nefes Analizi.....	64
4.3.1. Metotlar.....	68
4.3.1.1. Polisomnografi.....	69
4.3.1.2. OA-CEAS ile nefes analizi.....	70
4.3.1.3. TD-GC/MS ile nefes analizi.....	75
4.4. Nörolojik Hastalarda Nefes Analizi.....	82
4.4.1. VPA kullanan epilepsi hastalarının nefeslerindeki amonyak molekülü miktarının OA- CEAS yöntemi ile analizi.....	82
4.4.2. Deney düzeneği.....	86
4.4.3. Hekzanal molekülü ile nörolojik hastalıklar arasında ilişki.....	91

4.4.3.1. Epilepsi	95
4.4.3.2. MS	96
4.4.3.3. Parkinson	97
4.4.3.4. Farklı ilaç kullanan epilepsi hastalarının nefes analizi.....	100
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	103
5.1. Nefes Analizi İçin Spektroskopik Teknikler	103
5.2. Lazer Frekansının Kararlılaştırılması.....	106
5.3. OUAS Hastalarının Nefes Analizi.....	106
5.4. Nörolojik Hastalıklarda Nefes Analizi.....	109
5.4.1. VPA Kullanan Epilepsi Hastalarının Nefeslerinin OA-CEAS Yöntemi ile Analizi.....	109
5.4.2. Hekzanal molekülü ile nörolojik hastalıklar arasında ilişki.....	110
5.4.3. Farklı ilaç kullanan epilepsi hastalarının nefes analizi	112
KAYNAKLAR.....	114
EKLER.....	136
ÖZGEÇMİŞ	139



ÖZET

Doktora Tezi

LAZER TEMELLİ BİYOMEDİKAL SENSÖRÜ VE GAZ KROMATOĞRAFİSİ YÖNTEMLERİYLE HASTALIKLARIN TEŞHİSİ İÇİN NEFES ANALİZİ

Hatice AKMAN

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Elektronik ve Haberleşme Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. İsmail Bayraklı

İnsan nefesi, azot, oksijen, karbondioksit, su, asal gazlar ve uçucu organik bileşenler (UOB) içerir. Bazı organik bileşenler her insanda müşterek bulunurken, bazıları her insanda farklı farklı bulunur. Ortak bulunan UOB 'lerin nefes testi, hastalıkların teşhis, ilerleme ve tedavi süreçlerinin takibi ve insan metabolizmasının incelenmesi ve için güvenilir bir yöntem sağlayabilir.

Bu tez çalışmasında nefeste bulunan moleküllerin analizi için hassas ölçüm yapabilen bir lazer spektrometresi geliştirilmiştir. Lazer spektroskopisi yöntemi ile obstruktif uyku apnesi sendromu (OUAS) hastalarının nefeslerindeki CO₂ miktarı ve valproik asit (VPA) ilacı alan epilepsi hastalarının nefeslerindeki amonyak molekülü miktarları incelenmiştir. Çalışmada lazer sistemin frekans kararlılığı için simülasyon yapılmıştır. Ayrıca, analitik metotlardan TD-GC/MS ile OUAS hastalarının nefesleri analiz edilmiştir. Aynı yöntem ile nörolojik hastalıklarda ve farklı ilaç kullanan epilepsi hastalarında lipit peroksidasyon metabolizması sonucu nefeste açığa çıktığı bilinen hekzanal molekülü incelenmiştir.

Nefes analizi metodunda geliştirilecek ve araştırılacak alan çoktur. Ülkemizde bildiğimiz kadarı ile çalışmalar sadece tarafımızdan yürütülmektedir. Çalışmalarımız sonucunda hassas bir şekilde nefes analizi yapabilmemizi sağlayan lazer spektrometresi başarı ile geliştirilmiştir. Hastaların nefesleri optik ve analitik olarak farklı iki yöntemle incelenmiş ve gelecek vaat eden sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nefes Analizi, Lazer Spektroskopisi, TD-GC/MS, Uyku Apnesi, Epilepsi, Multiple Skleroz, Parkinson.

2017, 142 sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

BREATH ANALYSIS TO DIAGNOSE DISEASES WITH LASER BASED BIOMEDICAL GAS SENSOR AND GAS CHROMATOGRAPHY METHODS

Hatice AKMAN

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Electronics and Communication Engineering**

Supervisor: Asst. Prof. Dr. İsmail BAYRAKLI

Human breath contains, nitrogen, oxygen, carbon dioxide, water, inert gases and volatile organic compounds (VOCs). Some organic compounds are common in every human being, some compounds differs from person to person. The breath test of commonly found UOBs, can provide a reliable method for observing diagnosis, progression and treatment of diseases and examining human metabolism.

In this thesis, laser spectrometry was developed which can measure and analyze breath molekuls precisely. The amount of CO₂ in the breath of patients with obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) and the amount of ammonia molekül in the breath of patients with epilepsy taking valproic acid (VPA) were examined by laser spectroscopy. A simulation was made for frequency stability for the laser system. Breath air of the OSAS patients were analyzed. In the same way, the hexanal molekül known to be exhault in breath with the lipit peroxidation metabolism from the breath of the neurological patients and epilepsy patients who use VPA was examined.

The method of breath analysis has many area to be developed and investigated. Studies are only carried out by our group in our country as much as we know. We have successfully developed a laser spectrometry, that allows us to perform a breathing analysis precisely as a result of our work. Patients' breaths were examined by two different methods, optically and analytically, and promising results were obtained.

Keywords: Breath Analysis, Laser Spectroscopy, TD-GC/MS, Sleep Apnea, Epilepsy, Multiple Sclerosis, Parkinson's Disease.

2017, 142 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile her çalışma aşamasında bana yardımcı ve destek olan değerli danışmanım Yrd. Doç. Dr. İsmail BAYRAKLI hocama tüm emekleri için teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bana yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım, Prof Dr. Süleyman KUTLUHAN, Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK, Yrd. Doç. Dr. Evren EKMEKÇİ, Yrd. Doç. Dr. Umut TİLKİ, Yrd. Doç. Dr. Övünç POLAT, hocalarıma teşekkür ederim.

3917-D2-14 No`lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleşmesinde 112E559 numaralı TÜBİTAK EEEAG 1001 projesi ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan eşim Hüseyin AKMAN'a moral kaynaklarım olan çocuklarım Ebrar ve Emir AKMAN'a, desteklerini her zaman hissettiğim değerli ailem ve arkadaşlarıma sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Hatice AKMAN
ISPARTA, 2017

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1. Akciğer kapasitesi	20
Şekil 3.2. Nefes verirken CO ₂ konsantrasyon grafiği	21
Şekil 3.3. Soğurma, b. Spontan emisyon, c. Uyarılmış emisyon	23
Şekil 3.4. Lazer oluşumu için optik rezonatör.	24
Şekil 3.5. Diyot lazerlerin frekans dalgalanmaları için ana sebepler	25
Şekil 3.6. Soğurmanın basınca göre değişimi	27
Şekil 3.7. a. Littrow konfigürasyonu b. Littman-Metcalf konfigürasyonu ...	29
Şekil 3.8. Eksen dışı ışın yayılması. L kavite uzunluğu, Noktalar döngünün gidiş geliş yapıldığını göstermektedir.....	33
Şekil 4.1. OA-CEAS deney düzeneği şematik gösterim	46
Şekil 4.2. OA-CEAS deney düzeneği	46
Şekil 4.3. Dış kavite diyot lazer (ECL) düzeneği.....	48
Şekil 4.4. 1451 ila 1621 nm arasında ayarlanan optik kırınım ağından tek modlu operasyonda gelen spektrum ölçümleri	48
Şekil 4.5. Dedektöre soğurma hücresi üzerinden lazer gönderimi	49
Şekil 4.6. Fabry perot interferometre (FPI) pikleri üzerinde NH ₃ soğurma hücresi olmadan ve soğurma hücresi ile ışık gücü gösterimi.....	50
Şekil 4.7. Farklı giriş akımlarından tek modlu lazerin çalışması	50
Şekil 4.8. Optik kavite ile spektral bant genişliği ölçümü. 20 Hz frekanslı bir kavite genişlik modülasyonu periyodu sırasında gözlenen sıçramalar	51
Şekil 4.9. Sabit lazer frekansında OA-CEAS hücresi kavite modları üzerinden aktarılan yoğunluk	53
Şekil 4.10. CEAS sinyali basıncın bir fonksiyonu olarak çizimi.	54
Şekil 4.11. Entegre CEAS sinyalinin NH ₃ konsantrasyon fonksiyonu olarak çizimi.....	54
Şekil 4.12. N ₂ içinde 2.7 ppm NH ₃ içeren CEAS hücreinden geçen aktarım sinyali.....	55
Şekil 4.13. Soğurma katsayısı.....	55
Şekil 4.14. OA-CEAS Lazer Spektroskopi için nefes toplama torbası (a) Analiz edilen havanın toplandığı kısım, (b) Atık torbası, ölü boşluk havasının toplandığı kısım	58
Şekil 4.15. Nefes havası ile dolu CEAS'tan geçen aktarım sinyali	58
Şekil 4.16. NH ₃ 'ün 6528.76 cm ⁻¹ 'deki soğurma katsayısı.	59
Şekil 4.17. Kapalı çevrim kontrol sistemi.....	60
Şekil 4.18. ECL deney düzeneği çıkışından (y1) ve ECL deney düzeneği girişinden (u1) alınan veriler (zaman-frekans eksenleri üzerinde).....	60
Şekil 4.19. a) Lazer ECL sisteminin transfer fonksiyonun step fonksiyonu cevabı b) PID ayarlama ile step fonksiyonu cevabı	61
Şekil 4.20. Lazer kararlılığı için sistem simülasyon düzeneği.....	62
Şekil 4.21. Lazer sinyalinin, kararlılaştırılmadan önce ve PID ile kararlılaştırıldıktan sonra çıkışı	63
Şekil 4.22. Lazer sinyalinin, kararlılaştırılmadan önce	63

Şekil 4.23. PID ile kararlılaştırıldıktan sonra	64
Şekil 4.24. Aseton-Bütanol metabolizması.....	66
Şekil 4.25. HITRAN veritabanı kullanılarak hesaplanan CO ₂ ve H ₂ O soğurma çizgileri.....	71
Şekil 4.26. HITRAN veritabanı kullanarak hesaplanan teorik sonuç ile çok iyi uyum gösteren 6357.31 cm ⁻¹ 'de (Kesikli mavi çizgi) N ₂ içerisinde %5 CO ₂ ile dolu CEAS hücresi yoluyla iletim sinyali (Noktalı kırmızıçizgi). DL, Tespit limiti.....	71
Şekil 4.27. Alveoler havayla dolu CEAS hücresi yoluyla CO ₂ iletim sinyali. 6357.31 cm ⁻¹ 'de CO ₂ izole soğurma çizgisi gözlenebilir. Veriler, yüzde iletim birimlerinde kesikli çizgiler halindedir ve FPI pikleri gösterilmektedir.....	72
Şekil 4.28. CO ₂ soğurma katsayısı.....	73
Şekil 4.29. Nefes CO ₂ konsantrasyonları ile gönüllülerin kalibrasyon için çoklu ölçümleri	73
Şekil 4.30. Uyku öncesi ve sonrası OUAS'lı hastalarla, uyku sonrası sağlıklı bireylerin nefeslerinde bulunan CO ₂ molekülünün kıyaslanması.....	74
Şekil 4.31. Nefes örneklerini toplama aparatları.....	75
Şekil 4.32. Hastalardan örnek alınımı.....	76
Şekil 4.33. Nefes havasının 10 sn içerisinde kartuşa iletilmesi	76
Şekil 4.34. Hastalardan uyumadan önce, uykudan hemen sonra alınan ve hastanın bulunduğu ortamdan alınan hava örneği	77
Şekil 4.35. Kullanılan TD-GC/MS (Agilent 7890A)	77
Şekil 4.36. Sağlıklı gönüllüler ve OUAS hastalarından nefes havasında bulunan aseton seviyelerinin kutu diyagramı karşılaştırması	80
Şekil 4.37. Uyku öncesi ve sonrası OUAS'lı hastalarla, uyku sonrası için sağlıklı bireylerin nefes havalarında bulunan bütanol molekülünün kıyaslanması	81
Şekil 4.38. NH ₃ 'ün 6528.89 cm ⁻¹ 'de izole soğurma çizgisi ve NH ₃ ve CO ₂ ' in 6528.89 cm ⁻¹ 'de izole soğurma çizgisi, soğurma olmadan I ₀ giren ışık	87
Şekil 4.39. NH ₃ ve CO ₂ 'nun soğurma çizgilerinin FPI sinyali üzerindeki normalize görünümü.....	87
Şekil 4.40. Voigth fit, soğurma katsayısı	88
Şekil 4.41. Kontrol amaçlı aynı kişiden tekrarlı nefeste bulunan amonyak molekül miktarı ölçümleri.....	88
Şekil 4.42. Her ölçümdeki soğurma katsayıları için lineer ilişki.....	89
Şekil 4.43. VPA ilacının kullanımından önce, kullanımından sonra ve sağlıklı kontrol grubunun verilen nefes havasındaki amonyak molekülü miktarının kutu grafiği ile gösterimi	90
Şekil 4.44. Verilen nefes havasındaki amonyak molekülü miktarı ile kandaki VPA miktarı korelasyon gösterimi.....	91
Şekil 4.45. Lipid peroksidasyon metabolizması.....	93
Şekil 4.46. Epilepsi hastalarının nefeslerindeki hekzanal molekülü miktarı ile yaş BMI ilişkisi.....	95
Şekil 4.47. MS hastalarının nefeslerindeki hekzanal molekül miktarı ile yaş BMI ilişkisi	97
Şekil 4.48. Parkinson hastalarının nefeslerindeki hekzanal molekülü miktarı ile yaş BMI ilişkisi.....	99

Şekil 4.49. Epilepsi, MS ve Parkinson hastaları ile kontrol grubu nefes hekzanal konsantrasyonları.....	99
Şekil 4.50. VPA , LEV ve LMJ kullanan epilepsi hastalarının ve kontrol grubunun nefeslerinde bulunan hekzanal molekölü miktarları	101



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Nefes molekülleri ile hastalıklar arasındaki ilişki.....	10
Çizelge 3.1. Sağlıklı kişilerin nefesinde bulunan molekül miktarları	19
Çizelge 4.1. Elde edilen PID parametreleri.....	62
Çizelge 4.2. Çalışmaya katılan 10 OUAS'lı Hastanın demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri (BMI, Vücut kitle indeksi; AHI, apne hipopne indeksi; ODI, oksijen doygunluğu seviyesi).....	69
Çizelge 4.3. Termal ayrıştırıcı ayarları	78
Çizelge 4.4. TD-GC/MS ve OA-CEAS ile OUAS hastalarının nefeslerinde bulunan aseton, bütanol ve karbondioksit molekül miktarları.....	81
Çizelge 4.5. Epilepsili 10 hasta ve sağlıklı 15 gönüllünün demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri	85
Çizelge 4.6. Nefes amonyak konsantrasyonlarının minimum, maksimum, dördü ve ortalama değerleri	90
Çizelge 4.7. 12 Epilepsi hastası, 13 MS hastası, 8 Parkinson hastası ve sağlıklı 12 gönüllünün demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri.....	94
Çizelge 4.8. Nefes hekzanal konsantrasyonlarının minimum, maksimum ve ortalama değerleri.....	102
Çizelge 5.1. Çeşitli yayınlanmış lazer tabanlı amonyak molekülü tespit etme deneylerinin bazı parametreleri.....	104

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AHI	Apne Hipopne İndeksi
BMI	Vücut Kütle İndeksi
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CALOS	Kavite Sızıntısı Spektroskopisi
CEAS	Kavite İle Geliştirilmiş Soğurma Spektroskopisi
CEDCS	Kavite Destekli Çift Taraklı Spektroskopi
CIH	Kronik Aralıklı Hipoksi
COMB	Optik Frekans Tarak Spektroskopisi
CRDS	Kavite Döngü Spektroskopisi
CW	Sürekli Dalgalı (Continuous Wave)
DFB DL	Dağıtılmış Geri Besleme Diyot Lazeri
EBC	Verilen Nefesin Yoğunlaştırılması
ECL	Harici Kavite Lazeri
ERV	Ekspirasyon Rezerv Volüm
FPI	Fabry Perot Girişim Ölçer
FRC	Fonksiyonel Rezidüel Kapasite
FSR	Spektral Boşluk Aralığı (Free Spektral Range)
IC	İnspiratuvar Kapasite
ICOS	Kavite Entegre Edilmiş Çıkış Spektroskopisi
İRV	İnspiratuvar Rezerv Volüm
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
MDAC	Minimum Algılanabilir Soğurma Katsayısı
MLFL	Mod Kilitli Fiber Lazer
NEAS	(Normalize) Gürültü Eşdeğer Soğurma Hassasiyeti
OA-CEAS	Eksen Dışı Kavite İle Geliştirilmiş Soğurma Spektroskopisi
OA-ICOS	Eksen Dışı Kavite İle Geliştirilmiş Çıkış Spektroskopisi
ODI	Oksijen Doygunluğu Seviyesi
OFC-CEAS	Optik Frekans Tarağı-Kavite İle Geliştirilmiş Soğurma Spektroskopisi
OFCS	Optik Frekans Tarama Spektroskopisi
OUAS	Obstrüktif Uyku Apne Sendromu
PAS	Foto Akustik Spektroskopi
PDH	Pound Drever Hall
ppb	Milyarda Bir
ppm	Milyonda Bir
ppt	Trilyonda Bir
PSG	Polisomnografi
PZT	Piezoelektrik Transdüser
QCL	Kuantum Dalga Lazeri
QEPAS	Kuartz İle Geliştirilmiş Foto Akustik Spektroskopi
RV	Residüel Volüm
SD	Standart Sapma
SE	Standart Hata
SIM	Seçici İyon Takibi

TD-GC/MS	Termal Ayrıştırıcı Eklenmiş Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
TDLAS	Dalga Boyu Ayarlanabilir Lazer Kaynağı
TEC	Termoelektrik Soğutucu
TLC	Total Akciğer Kapasitesi
TM	Enine Manyetik (Transverse Manyetik)
UOB	Uçucu Organik Bileşik
VC	Vital Kapasite
VCSEL	Dikey Boşluklu Yüzeyden Yayımlayan Lazer
VPA	Valproik Asit
V _T	Tidal Volüm



1. GİRİŞ

Nefes analizi invazif olmayan metot olarak hastalıkların tespitinde, tedavi sürecinin takibinde, hastanın sağlık durumunun gösterilmesinde kullanılan ve gün geçtikçe önemi artan bir metottur. Nefeste bulunan uçucu organik bileşiklerin (UOB) analizinin, hâlihazırda kullanılan serum veya idrar analizine göre rahatsız edici olmaması, istendikçe tekrarlanabilmesi ve ağrısız/acısız bir yöntem olması gibi birçok avantajları vardır. Nefeste bulunan UOB'lerin miktarı ve çeşitliliği, metabolik düzensizliklerden ve hastalıklardan etkilenebildiği için, hastalıkların teşhisi için güvenli bir yöntem sunabilmektedir. Bu yöntem ile yeni çalışmaların yapılarak, daha geniş verilerin elde edilmesi ile nefes analizi yönteminin kullanım alanının artacağı ve hem hastalara hem de tıp doktorlarına büyük kolaylık ve rahatlık sağlayacağı düşünülmektedir. Nefes analizinin avantajlarından bir tanesi, risk içermemesidir. Hasta kolaylıkla ve tekrar tekrar nefes verebilir. Cihaz kullanımı için nitelikli ve kalifiye eleman ihtiyacına gerek yoktur. Ayrıca nefes analizi ile elde edilebilecek veriler, tıp alanında yeni gelişmeler sağlayabilir. Nefesteki UOB'ler belirli hastalıklar ve metabolik düzensizliklerle ilgili biyoşaretler olarak belirlenebilir (Wang ve Sahay, 2009). Bu sebeplerden dolayı nefes analizi bilimsel ve klinik çalışmalarda şimdiye kadar oldukça ilgi görmüştür.

Tarihte bilinen ilk nefes analizi Antik Yunan döneminde koklama yoluyla hastalıkların tespiti ile başlamıştır (Kim vd., 2012). Modern nefes analizinin başlangıcı ise 1971 yılında yapılan Pauling ve ekibinin çalışması ile başladı kabul edilir. Yaptıkları çalışmada, normal insan nefesinin, ppb (milyarda bir) veya daha az seviyede yüzlerce UOB içerdiği keşfedilmiştir (Pauling vd., 1971). Nefeste bulunan UOB'ler, insan metabolizması sonucu meydana gelmiş olabileceği gibi, o an veya geçmişte solunan havadan veya deri yoluyla alınması ile, verilen nefeste görülüyor olabilir (Pleil vd., 2013). Her insanda 1000'in üzerinde farklı UOB bulunmasına rağmen az sayıda UOB insanlarda ortak olarak bulunmaktadır (Cao ve Duan, 2007). İzopren, aseton, etan ve metanol metabolizmamızda kullanılan temel moleküllere örnek olarak

verilmektedir (Sanchez ve Sacks, 2003). Nefes analizi yönteminin kullanım kolaylığı, risk içermemesi gibi çok sayıda avantajının yanında, aşılması gereken bazı problemler vardır. Uzun araştırma geçmişine rağmen, nefes analizi hala hastanelerde rutin bir yöntem olarak kullanılamamaktadır. Bu duruma sebep olan ve araştırılması/açıklanması gereken birçok konu bulunmaktadır. Bu konular:

1. Nefesteki biyolojik emareler ile hastalıklar arasındaki ilişkilerin derin bir şekilde anlaşılabilmesi,
2. Nefes moleküllerinin fizyolojik fonksiyonlarının ve kaynaklarının (oluşum mekanizmasının) bilinmemesi,
3. Örneklem süreci (nefes gazının toplanması, analizi ve arka plan düzeltilmesi) için kabul edilebilir bir normalleştirme ve standartlaştırmanın olmaması,

şeklinde sıralanmaktadır.

Mevcut cihazların bir kısmında kullanım zorluğu vardır. Anlık analiz edilmesi için gerçek zamanlı monitörlerin ve taşınabilirlik kolaylığının olması gerekmektedir. Nefes analizinin başlıca problemlerinden biri, dış etmenlerden etkilenmesidir. Ortam havasında bulunan farklı moleküllerin vücuda girerek analiz sonucunu değiştirmesi, sigara kullanımı vs. gibi etmenler de göz önüne alınmalıdır. Şu anda bu konuda standartların oluşturulmamış olması bu konuda görülen en önemli eksikliklerden birisidir (Buszewski vd., 2007). Özellikle standartların oluşturulması için, çalışmaların çok sayıda hasta üzerinde yapılarak sonuçların değerlendirilmesi gerekmektedir (Risby ve Solga, 2006).

Hastalıkların tespiti için nefes testinin gelecekte kullanımının daha da artarak tıp alanında faydalı bir şekilde kullanılabileceği öngörülmektedir. Nefes testinin:

- İnsan metabolizmasının incelenmesinde,
- Hastalıkların teşhisinde,
- Hastalıkların ilerleme ve tedavi süreçlerinin takibinde,
- Yeni ilaç terapilerinin gözlemlenmesinde, faz 1 ve 2 klinik denemelerinde

güvenilir bir yöntem olarak özellikle hasta ve doktorlar için büyük kolaylıklar sağlayacağı öngörülmektedir.

Hastalıkların teşhisinde günümüzde en çok kan tahlili, idrar tahlili, manyetik rezonans (MR), röntgen gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerde bazılarının girişimsel olması, hastaların acı çekmesi veya hastaların elektromanyetik dalgalara maruz kalması en önemli dezavantajlarından. Ayrıca sonuçların elde edilmesi uzun sürmektedir.

Nefes analizi yöntemi, hastalıkların daha hızlı ve acısız bir şekilde teşhis edilmesine imkan sağlamaktadır. Nefes analizi metodunun yaygınlaşması ile;

- Numune almak ve analiz etmek için karmaşık prosedürlere gerek kalmayacaktır.
- Sistem kurulduktan sonra hasta başına maliyet neredeyse olmayacaktır.
- Hastalara ölçümlerden önce herhangi bir ilaç, radyasyon, kimyasal vb. verilmeyecektir.
- Elde edilecek sonuçlarla, pahalı ve acı veren (kan verme, endoskopi gibi) yöntemlerin yerini zahmetsiz, ağrısız, invazif olmayan, hızlı ve kolayca icra edilebilen nefes analizi yöntemi alabilir. Bu da, hem hastalar hem de doktorlar için büyük bir kolaylık sağlayacaktır.
- Bu yöntemle hastalıklara daha erken dönemde müdahale edilerek meydana gelecek riskler minimum seviyeye çekilebilecektir.

Bu sebeplerle bu tez çalışmamızın çıktı faydasının en çok hastalara olacağı düşünülmektedir.

Verilen nefesin analizinde temel olarak 2 yöntem kullanılmaktadır. Bunlar;

- Optik,
- Analitik (Optik Olmayan),

yöntemlerdir.

Optik ve analitik yöntemler karşılaştırıldığında, analitik yöntemlerin optik yöntemlere göre dezavantajları olduğu görülmektedir. Analitik yöntemler pahalıdır, yer işgal ederler, örnek toplama ve numunenin ön hazırlanması için karmaşık süreçler içerirler. Nefes analizi ve hastanelerdeki pratik uygulamaları için, yüksek hassasiyet, seçicilik, kısa tepki süresi, sağlamlık, düşük algılama sınırı, maliyet, boyutlar, gerçek-zamanlı analiz ve hasta başında test imkanı gibi parametreler önemlidir. Bu yönleri ile optik yöntemlerin avantajları daha fazladır.

Çalışmamızda nefes analizi için eksen dışı kavite ile geliştirilmiş soğurma spektrometresi (OA-CEAS; off-axis cavity enhanced absorption spectroscopy, Eksen dışı kavite ile geliştirilmiş soğurma spektrometresi) sistemi geliştirilerek kurulmuştur. Yapılan çalışmalar kapsamında:

- Yüksek duyarlılıkta (ppb seviyesinde),
- Seçiciliği yüksek olan,
- Farklı moleküllerin tespiti için dalga boyu ayarlanabilen,
- Gerçek zamanda ölçüm yapabilen,
- Oda sıcaklığında çalışabilen ve
- Kullanımı kolay,

spesifik bir prototip cihaz tasarımı gerçekleştirilmiştir.

Lazer frekans kararlılığını sağlamak için, kurulan lazer sisteminin harici kavite lazeri (ECL; external cavity laser) çıkışından veriler alınmıştır. Elde edilen veriler kullanılarak, MATLAB-Simulink (R2016b) ile kontrol sistemi modellenerek, lazer kararlılığı simülasyon olarak sağlanmıştır. OA-CEAS sistemi ile OUAS hastalarının, VPA kullanan epilepsi hastalarının nefes

havauları incelenmiştir. TD-GC/MS ile OUAS, epilepsi, multiple skleroz (MS), Parkinson hastalarının nefes havauları da incelenmiştir. Ayrıca farklı ilaç kullanan epilepsi hastalarının nefesleri analiz edilerek ilaçların etkileri araştırılmıştır.

Bu doktora tezi aşığıdaki bölümlerden oluşmaktadır;

2. Bölümünde nefes analizi çalışmaları ile ilgili yapılan 'Kaynak Özetleri'ne yer verilmiştir.

3. Bölümde 'Materyal ve Yöntem' kısmında solunum fizyolojisi, lazer ile ilgili temel bilgiler, lazer frekansının kararlılaştırılması, nefes analizinde kullanılan yöntemlere yer verilmiştir.

4. Bölümde 'Araştırma Bulguları ve Sonuçlar' kısmında geliştirilen lazer spektrometre anlatılarak, bu sistem ile incelenen OUAS ve VPA kullanan epilepsi hastalarının nefes analizlerine yer verilmiştir. Termal ayrıştırıcı eklenmiş-gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (TD-GC/MS) ile OUAS hastalarının nefesi ve nörolojik hastalıklardan epilepsi MS ve Parkinson hastalarının nefesleri ve ayrıca farklı ilaç kullanan epilepsi hastalarının nefesleri hekzanal konsantrasyonları bakımından incelenmiştir

5. Bölümde 'Sonuç ve Öneriler' kısmında sonuçlar yorumlanarak eklenmiş ve çalışmaların geleceğe dönük nasıl geliştirilebileceği hakkında yorumlar yapılmıştır.

6. Bölümde tez içinde atıfta bulunulan 'Kaynaklar'a yer verilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Modern nefes analizinin başlangıcı, 1971 yılında yapılan Pauling ve ekibinin çalışması olarak kabul edilir. Bu çalışmada, normal insan nefesinin, ppb (milyarda bir) veya daha az seviyede yüzlerce UOB içerdiği keşfedilmiştir. O günden bu zamana kadar yapılan araştırmalardan nefesin, ppm (milyonda bir) ve ppt (trilyonda bir) seviyelerinde 1.000'den fazla farklı UOB içerdiği tespit edilmiş ve bunlardan sınırlı sayıda olan bir kısmının hastalıklar ile değiştiği bulunmuştur. Nefes analizi için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bu bölümde nefes analizinde kullanılan teknikler, lazer frekansının kararlaştırılması ve hastalardan alınan nefeslerin analiz sonuçları ile ilgili çalışmalara yer verilmiştir. Çalışma konularımız olan OUAS, VPA kullanan epilepsi hastaları, MS ve Parkinson hastalarının nefesleri üzerine yapılan çalışmalara yer verilmiştir.

2.1. Lazer Spektroskopisi

Nefes analizinde kullanılan yöntemlerden çok geçişli hücre soğurma metodu (MCAM; multipass cell absorption method), Kavite döngü spektroskopisi (CRDS; cavity ring-down spectroscopy) (Manne vd., 2006; O'Keefe ve Deacon 1988; Mazurenka vd., 2005) kavite entegre edilmiş çıkış spektroskopisi (ICOS; integrated cavity output spectroscopy) (Baer vd., 2002; Bakhirkin vd., 2004) (CEAS; cavity enhanced absorption spectroscopy) (Peeters vd., 2000) foto akustik spektroskopisi (PAS; photoacoustic spectroscopy) (Elia vd., 2009; Hofstetter vd., 2001), optik frekans tarak spektroskopisi, kuvars ayar çatalı ile geliştirilmiş foto akustik spektroskopisi (QEPAS; quartz-enhanced photoacoustic spectroscopy) (Horstjann vd., 2004; Kosterev vd., 2002) (COMB; optical frequency comb spectroscopy) (Dahnke vd., 2001; Halmer vd., 2005) metotları nefes analizinde kullanılan metotlardandır ve numunenin ön hazırlığını gerektirmezler.

ICOS sistemlerinde, uzun sinyal ortalamasına ihtiyaç duyulmaktadır (Engeln vd., 1998; O'Keefe vd., 1999). Paul vd., (2001), yaptıkları çalışmada büyük aynalar ve güçlü eksen dışı kavite uyarımı ile düzensiz bir kavite iletimi elde etmişlerdir. Baer vd. (2002), spesifik kavite konfigürasyonları için, eğrilik ve astigmatizm kullanmış ve bu şekilde sistem performansını artırmışlardır. Bu çalışmada, yüksek finessesine sahip optik kaviteye eksen dışı lazer ile, lazere 4.2 km yol aldırarak, 1.1 Hz deteksiyon bant genişliğine sahip deteksiyon hassasiyeti $3.1 \times 10^{-11} \text{cm}^{-1} \text{Hz}^{1/2}$ olan OA-ICOS sistemini CO, CH₄, C₂H₂ ve NH₃ moleküllerini tespit etmek için sistem geliştirmişlerdir.

Kasyutich ve Sigrist (2015), yaptıkları çalışmada ise, DFB (dağıtılmış geri beslemeli lazer-distributed feedback laser) kullanarak 1605 nm de insan nefesinde bulunan ¹³C¹⁶O₂/¹²C¹⁶O₂ izotoplarını birbirinden ayıracak OA-CEAS lazer spektroskopi sistemi geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri sistemde gürültü eşdeğer soğurma hassasiyeti $3.9 \times 10^{-10} \text{cm}^{-1} \text{Hz}^{-1/2}$ dir. Kavite uzunluğu 28.2 cm olup, 8.688 sn de lazer kavitede 4000 kez yol alabilen sistem tasarlamışlardır.

2.2. Lazer Frekansının Kararlılaştırılması

Frekansları kararlılaştırılmış ve dar çizgi genişliğine sahip diyot lazerler, hassas atomik ve moleküler spektroskopi, lazer soğutma, kuantum hafıza, atomik saatler ve atom interferometresi gibi birçok uygulama için oldukça önemlidir. . Lazer frekansının sabitlemesi için Pound Drever Hall (PDH) tekniği ve kenar sabitleme yöntemi gibi çeşitli yöntemler bulunmaktadır. PDH tekniği yüksek bant genişliği olan bir yöntemdir, dar-aralıklı fabry-perot kavitesi kullanır ve faz değişimi gerektirmektedir. Zhao vd. (2012) yaptıkları çalışmada harici optik geri besleme ve Pound-Drever-Hall tekniği (PDH) kullanarak, 689 nm'lik bir dalga boyunda çalışan bir dış kaviteli lazer (ECL- (External Cavity Laser)) için çizgi genişliği alt-kHz aralığına düşürmüşlerdir. Hirata vd. (2014), 657 nm'lik bir dalga boyunda çalışan ECL'yi PDH tekniğini kullanarak bir oyuğun (cavity) rezonans frekansına sabitlemiş ve alt-hertz bir çizgi genişliği gözlemlemiştir.

Lazer frekansını sabitlemek ve buna bağı olarak bir lazerin çizgi genişliğini daraltmak için, aktif frekans kararlaştırma teknikleri kullanılabilir. Uzun süreli frekans kararlaştırmaya, lazer frekansını nispeten daha kararlı bir referans seviyesine kilitleyerek ulaşılabilir. Lazer frekans değişimlerini algılamak için, lazerin frekans dalgalanmalarını gerilim dalgalanmalarına dönüştüren bir frekans ayrıştırıcı (örn. fabry perot) gerekmektedir. Kaspar vd. (2011), 2.3 µm'lik bir dalga boyunda tek frekanslı dikey-harici-kaviteli yüzey-yayımlı yarı iletken lazeri (VECSEL) yüksek finessesine sahip fabry perot girişimölçer (FPI) ve kontrol geribesleme döngüsü ile (1-s örnekleme zamanı) 390 kHz'lik bir lazer çizgi kalınlığı elde etmişlerdir. Frekans ayrıştırıcılar radyo frekans ayrıştırıcı (RF) (Schilt vd., 2011) ve optik ayrıştırıcı olarak iki ana gruba ayrılmaktadırlar. Ayrıca gaz ile doldurulmuş bir hücre, optik ayrıştırıcı olarak kullanılabilir (Bartalini vd., 2010). Zhao vd. (2004), 852 nm civarından bir atomik geçişe sabitlenmiş bir ECL frekansı göstermiş ve <0.8 MHz olacak şekilde frekans değişikliği elde etmişlerdir.

2.3. Nefes Analizi

Nefes analizi metodu kullanılarak çok çeşitli hastalıklar teşhis edilebilmiştir. Astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) (Paredi vd., 2000), OUAS hastalarında (Olopade vd., 1997) ve pnömoni (Schubert vd., 1998) hastalarında, yüksek seviyelerde hidrokarbonlara (örneğin, pentan ve etan) rastlanmıştır (Paredi vd., 2000). Akciğer hastalıkları araştırılırken hidrokarbonlar dışında, nitrik oksit (NO) de incelenmiştir (Folke vd., 2003; Pijnenburg ve De Jongste 2008). Akciğer nakli yapılan hastaların nefes konsantrasyonlarında NO'ya rastlanmıştır.

Phillips vd. (2003)'nin yaptıkları çalışmalarda nefeste C₄'den C₁₀'a kadar olan alkan ve monometil alkanların oksidatif stres ile ortaya çıktığını bildirmişler ve bu UOB'lerin, histolojik olan akciğer-kanser hastalarında belirleyici biyoişaret olduğunu belirtmişlerdir. Moretti vd. (2004), oksidatif stres kan

üre ve nefes analizi ile ölçülebilir olduğunu belirtmişlerdir. Oksidatif stresin ölçümü için biyoişaretler üzerinde çalışmalar yapılmıştır.

Serbest oksijen radikalleri zarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini okside ederek alkanlara (örneğin etan, pentan] çevirmekte ve bunlar da UOB olarak nefes ile dışarı verilmektedir. Ayrıca nefeste bulunan H_2O_2 konsantrasyon oranı oksidatif stres belirleyici olarak kullanılmaktadır (Lases vd., 2000; Kostikas vd., 2003)

Karbonhidratların bakteri metabolizması sonucu açığa çıkan H_2 portal dolaşıma katılmasının ardından nefes ile dışarı atılır (Perman 1991; Bauer vd., 2000).

Genel olarak yapılan nefes analizleri ve sonuçları Çizelge 2.1. de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Nefes molekülleri ile hastalıklar arasındaki ilişki

Molekül	Nefeste Bulunan Miktar	Hastalığı	Yöntem	Referans
Aseton	148- 2744 ppb arasında (Turner vd., 2006)	Diyabet	GC/MS, SIFT/MS	(Ligor vd., 2009; McCurdy vd., 2007)
		Dekarboksilasyon		(Risby ve Solga 2006)
		Ketonomiya, Diyabet		(Buszewski vd., 2007)
		Lipid Peroksidasyon, Akciğer Kanseri, Diyabet, Diyet, Yağ Kaybı, Konjestif Kalp Yetmezliği, Sinirsel Nöbet.		(C. Wang ve Sahay 2009)
Amonyak	833 ppb (Buszewski vd., 2007) 100 ppm (Goodman ve Patel, 2001) 1 ppm (Rotter, vd., 1987) 50 ppb (Manne, vd., 2006) 0-2 ppm (Wojtas, vd., 2012) 29 -688 ppb (Hibbard ve Killard, 2011)	Protein Metabolizması ile ilişkili.	PAS, TDLAS, OFC-CEAS (Optik frekans tarağı-Kavite ile geliştirilmiş soğurma spektroskopisi)	(Risby ve Solga 2006)
		Böbrek Hastalıkları, Astım, Helikobakter-Pyroli, Ağız Boşluğu Hastalığı		(Kearney vd., 2002; Smith vd., 2008; C. Wang ve Sahay 2009)
		Böbrek Bozukluğu		(Buszewski vd., 2007)
		Böbrek Hastalıkları, Astım		(C. Wang ve Sahay 2009)
Karbonmonoksit	1-68 ppm (Cunnington ve Hormbrey 2002) 900 ppb (Thorpe vd., 2008) 0.5 ppm (Moskalenko vd., 1996; P. S. Lee, vd., 1991)	Anti-enflamatuvar etkiler	OFC-CEAS, TDLAS PAS, CRDS, CALOS(Kavite sızıntısı spektroskopisi), ICOS.	(Ligor vd., 2009)
		Yenidoğan Sarılığı.		(Risby ve Solga 2006)
		Oksidatif Stres		(Paredi vd., 1999)
		Karnografi tanısı		(Ligor vd., 2009)
		Oksidatif Stres		(C. Wang ve Sahay 2009)
Oksijen reaksiyonu yan ürünü	(Minh vd., 2012)			

Molekül	Nefeste Buluan Miktar	Hastalığı	Yöntem	Referans
Karbondioksit	%5 (Kosterev vd., 2001)	Karnografi	QEPAS, PAS, CRDS, TDLAS, CALOS, ICOS.	(Ligor vd., 2009; C. Wang ve Sahay 2009; Minh, vd., 2012)
		Oksidatif Stres		
Etan	0-10 ppm (Wojtas vd., 2012) 270 ppt (Mürtz vd., 2006)	Oksidatif Stres	PAS, OA-ICOS, TDLAS,CALOS,	(J. K. Schubert vd., 2004)
		Astım, Obstrüktif Akciğer Hastalığı, Pnömoni, Obstrüktif Uyku Apnesi		(Buszewski vd., 2007)
		Lipid Peroksidasyon		(Olopade vd., 1997; Paredi vd., 2000; J. Schubert vd., 1998)
		E Vitamini Eksikliği, Lipid Peroksidasyon, Oksidatif Stres		(Wojtas vd., 2012a)
		V ₃ ve V ₆ Yağ Asitlerinin Oksidasyonu		(C. Wang ve Sahay 2009)
Etilen	11-30ppb (Cernat vd., 2010)	Lipid Peroksidasyonu, Derinin Ultraviyole Radyasyona maruz kalarak hasar görmesi	PAS	(Miekisch vd., 2004)
				(C. Wang ve Sahay 2009)
Nitrik Oksit	80 ile 100 ppb arasında (Fleischer vd., 2002) 2 ppb (Namjou vd., 2006), 3 ppb (200 sec) (Menzel vd., 2001), 0.7 ppb (Kosterev vd., 2001a), 1.5 ppb (4 sec) (Roller vd., 2002) 10-50 ppm (Heinrich vd., 2009)	Astım ve hava yolu iltihabı içeren diğer hastalıklar	ICOS, TDLAS, CEAS, CRDS, CALOS	(Ligor vd., 2009)
		Obstrüktif Akciğer Hastalığı, Akciğer Homogreft Disfonksiyonu, Akciğer Nakli.		(Dupont vd., 2003; Hillas vd., 2009; Bessa vd., 2008)

2.3.1. OUAS Hastalarında Nefes Analizi

Verilen nefesin yoğunlaştırılması (EBC) metodu ile OUAS teşhisi konulan hastaların nefesinin incelenmesi ve serumuna bakılması sonucunda her ikisinde de geçerli olmak üzere IL-6, TNF-a ve 8-isoprostane ile doğru orantılı olarak, IL-10 ile ters orantılı olarak geliştiği ve uyku sırasında hızlı değişimlerin olduğu gözlemlenmiştir (Arnardottir vd., 2009; Carpagnano vd., 2003; Y. Li vd., 2008; Loubaki vd., 2008; Vgontzas vd., 2005). Malakasioti vd. (2012), OUAS hastası olan çocuklarda yaptıkları çalışmada sabah uyku sonrasında nefeslerinde H₂O₂ konsantrasyonunun yüksek olduğunu göstermişlerdir (Malakasioti vd., 2012).

Yapılan diğer bir çalışmada kontrol grubu ve OUAS hastalarının nefesleri incelendiğinde uyku sonrası nefesinde pentan ve NO'ya bakıldığında OUAS hastalarının nefeslerinde uyku sonrası nefesinde arttığı, kontrol grubunda ciddi bir değişimin olmadığı gözlemlenmiştir. Cysteine OUAS hastalığında belirleyici bir faktördür (Cintra vd., 2011). OUAS için en önemli molekül NO olarak görülmekte ve hastalıkla ilgili en çok araştırma yapılan moleküllerden biridir (Mazzatenta vd., 2013).

OUAS hastaları ile yapılan bir çalışmada hasta üresinde 15-F₂t-isoprostane seviyesinin yüksek olduğu görülmüş, nefesteki miktarına bakılmamıştır (Monneret vd., 2010).

Nefesle dışarı verilen UOB'ler ve OUAS monoksitleri ile ilgili çalışmaların sonuçları Bikov vd. (2016), tarafından derleme makalesinde özetlenmiştir.

Ayrıca pediatrik OUAS hastaları ve kontrol olguları arasındaki nefesle dışarı verilen biyoişaret araştırma numunesinin analizi, bir elektronik burun ile yapılan ölçümlere dayalı olarak rapor edilmiştir (Benedek vd., 2013).

Lökotrien B₄ (Lefebvre vd., 2008) tümör nekroz faktörü- α (Y. Li vd., 2009) ve interlökin-6 (Carpagnano vd., 2002) gibi OUAS hastalarının nefeslerinde bazı biyoişaretleri değerlendirilmiştir. Ayrıca, nitrik oksit (Olopade vd., 1997;

Petrosyan vd., 2008) karbon monoksit (Petrosyan vd., 2008) etan ve pentan (Olopade vd., 1997) gibi UOB seviyelerinin, uyku öncesi, sonrası ve sağlıklı kontrol grubuyla kıyaslandığında, OUAS hastalarında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, bu bileşenlerin, OUAS için potansiyel biyoişaretler olduğu öne sürülmüştür. Fakat OUAS hastalarında nefeste bulunan UOB'ler ile ilgili diğer çalışmalar tutarsız sonuçlar sunmuştur. OUAS hastalarının nefeslerinde nitrik oksit düzeylerinde bir artış bulan Olopade vd. (1997), yaptıkları çalışmanın aksine, Foresi vd. (2007), OUAS hastalarında alveoler nitrik oksit konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük olduğunu bulmuştur. Bu nedenle bugüne kadar yayınlanan sonuçlar şu anki klinik uygulamalar için uygun ya da yeterli değildir. Birkaç solunum bozukluğunun fizyopatolojisini daha iyi anlamak ve klinik uygulama için ilgili faktörlerin yeterli validasyonunu sağlamak için bu alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu açıkça görülmektedir.

2.3.2. Nörolojik Hastalıkların Teşhisinde Nefes Analizi

Bugüne kadar nörolojik hastalıkların nefes analizi ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmamıştır. Nörolojik hastalıklarda oksidatif stres ve lipid peroksidasyon etkisine birçok çalışmada yer verilmiştir (Patel, 2004; Waldbaum, 2010; Devi vd., 2008; Baron vd., 2007; Gao vd., 2007; Demirci, 2013). Nefeste açığa çıkan hekzanal molekülü lipid peroksidasyon metabolizması ile nefeste açığa çıkabilmektedir (Dillard ve Tappel 1989; Esterbauer vd., 1991; Kinter 1995; Orhan 2007; Pryor vd., 1991). Nörolojik hastalıklarda lipid peroksidasyon nefeste açığa çıkan hekzanal molekülü ile araştırılarak incelenmiştir.

2.3.2.1. Epilepsi ve epilepsi hastalığında kullanılan ilaçlar

Bildiğimiz kadarı ile şu ana kadar epilepsi hastalarının nefesleri, hastalıkla ilgili biyoişaret aramak için incelenmemiştir. Yalnız VPA kullanan epilepsi hastalarının nefesleri Erhart vd. (2009), tarafından incelenmiştir. Erhart vd. (2009), 3-Heptanone'u analiz ederek kanda bulunan VPA miktarının nefesten tayin edilebileceğini göstermişlerdir. Bu tez çalışmasında kanda bulunan VPA miktarı

ile nefeste bulunan amonyak miktarı ilişkilendirilmeye çalışılmıştır. Valproik asit kullanan hastaların kanlarında amonyak miktarının yüksek olduğuna dair çok sayıda makale bulunmaktadır (Carr ve Shrewsbury 2007; Coulter ve Allen 1981; Murphy 1982; Ohtani vd., 1982; Rawat vd., 1981). Yalnız yayınlanan kaynaklara bakıldığı kadarı ile şu ana kadar hastaların nefeslerindeki amonyak miktarı incelenmemiştir.

Nefeste amonyak miktarının ölçülmesi için, daha önce yapılan çalışmalarda, nano yapılı α -MoO₃'ten oluşan kemosensitif bir gaz sensörü geliştirilmiştir. Bu çalışma nefesteki NH₃'ün analizi için umut vadetmektedir. Sensör aseton, NO ve CO'ya karşı NH₃ seçiciliği göstermiş ve nefesteki NH₃ konsantrasyonunu %90 bağıl nem koşullarında 400 ppb'ye kadar doğru bir şekilde tespit etmiştir. Spacek vd. (2015), 10 sağlıklı ve 10 sirozlu katılımcının kanındaki amonyak molekülü ile nefeslerinde bulunan amonyak molekül miktarını kuartz destekli fotoakustik spektroskopi yoluyla gerçek zamanlı olarak ölçmüşlerdir. Diğer bir çalışmada Ogimoto vd. (2015), kuartz kristal mikrobalsans sensörlerini üretmiş ve sensörlerin insan nefesindeki amonyak molekülü patolojik seviyelerde ölçülebileceğini göstermiştir (3 ppm'den fazla). Owen ve Farooq (2014), sekiz sağlıklı kişinin nefesindeki amonyak molekül seviyesini 100-350 ppb arası olarak bulduklarını ve kronik böbrek hastalığı teşhisi konulan üç hastadaki seviyelerinin 1000-4500 ppb arası olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Schmidt vd. (2013), amonyak molekülü konsantrasyonlarını ticari olarak satılan kavite döngü (Cavity Ringdown Spectroscopy) spektrometresi kullanarak on-line olarak ölçmüşler ve değerleri 396 ile 2133 ppb aralığında saptamışlardır. Hibbard ve Killard (2011), yine ticari olarak satılabilen, bir fotoakustik lazer amonyak analizör kullanarak sağlıklı bir popülasyonun (n=30) nefeslerindeki amonyak molekül seviyelerini gerçek zamanlı olarak ölçmüşler ve 29 ile 688 ppb arası olan nefesteki amonyak molekülü seviyelerinin ortalamasını 265 ppb olarak belirlemişlerdir. Nefeste bulunan amonyak molekül seviyeleri ile yaş, cinsiyet, vücut kütle endeksi (BMI) ve nefesteki karbon dioksit seviyeleri arasında bir korelasyon bulunmamıştır.

Bu tez çalışmasında farklı ilaçlar kullanan epilepsi hastalarının nefeslerinde bulunan hekzanal moleköl miktarları ayrıca incelenmiştir.

Epilepsi olan kişilerde oksidatif stres ve lipid peroksidasyon yüksek olarak görüldüğüne dair çalışmalar yapılmıştır (Deepa vd., 2008). Ayrıca, epileptogenez ve uzun süreli antiepileptik ilaç kullanımı oksidatif strese yol açarak nöronal hasara neden olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır (Duncan ve Thompson 2003; Sudha vd., 2001).

VPA içeren ilaçların lipid peroksidasyonu artırdığı yönünde çalışmalar mevcuttur (Martinez-Ballesteros vd., 2003). Yiş (2008)'in yaptığı çalışmada VPA tedavisi alan hastalarda tedavi öncesi gruba göre lipid peroksidasyonunun arttığını ama kontrol grubu ile aralarında anlamlı fark olmadığını bulmuşlardır. VPA tedavisi alan hastalar ile kontrol grubu arasında lipid peroksidasyonu açısından fark olmaması bunun kabul edilebilir sınırlar içinde olduğu kanısına varmışlardır (Yiş, 2008). VPA'nın ayrıca kilo alımına neden olduğu gösterilmiştir (Biton, 2003). Verrotti vd., (2008)'in yaptıkları çalışmada 31 epileptik çocuğun VPA ilacına başlamalarından 1 yıl sonrasına kadar takip etmişlerdir. 1 yıl sonrasında 11 epileptik çocukta obezite gerçekleşmiş ve sadece bu çocuklarda oksidatif stres artmıştır (Verrotti vd., 2008). LMJ nin lipid peroksidasyon ve oksidatif stres üzerindeki etkileri konusundaki çalışmalar farklıdır. LMJ'nin oksidatif strese bir etkisinin olmadığını belirten çalışmaların yanı sıra (Agarwal vd., 2011; Arora vd., 2010), hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda LMJ nin antioksidan etki gösterebileceğini (Eren vd., 2007; Kamal 2013) ve LMJ nin oksidatif stresi artırabileceğine dair farklı çalışmalar sunulmuştur (Abelaira vd., 2013). Stettner vd., (2011), LEV'in antioksidan olarak koruyucu olması bir çok çalışmada gösterilmiştir.

2.3.2.2. Multiple skleroz (MS)

MS hastalarının nefes analizi hakkında çok fazla çalışma yapılmamıştır. Yalnızca 2011 yılında yapılan çalışmada 37 MS hastasından ve 14 sağlıklı gönüllüden

alınan nefes örnekleri incelendiğinde hekzanal ve 5-metil-undekan MS hastalarının nefesinde daha fazla çıktığı görülmüştür (Ionescu vd., 2011).

2.3.2.3. Parkinson

Diğer nörolojik hastalıklarda da olduğu gibi Parkinson hastalığının teşhisi amaçlı çok fazla çalışma yapılmamıştır. Sadece Tisch vd. (2013), yaptıkları çalışmada 30 adet Parkinson hastasından ve 12 adet sağlıklı kişiden aldıkları nefesleri incelemişler ve araştırılan 25 adet molekülün (Stiren, 1-metil-2-(1-metil-etil)-benzen, 4-metiloktan, 2,6,10-trimetildodesan, 3,7-dimetildekan, butilat hidroksitoluen, 2,4-dimetil-1-hepten, 2, 3-dimetilheptan, Propil-benzen, 2,2,4,6,6-pentametilheptan, 2,5,6-trimetiloktan, 5-etil-2-metiloktan, 2,6,10,14-tetrametilheksilheksandekan, 3,7- dimetil-propanoat (E)-2,6-oktadien-1-ol, 2,3,5-trimetilheksan, (1-metiletil) benzen, (1-metilpropil) siklooktan, 2,2-dimetilpropanoik asit, 2-etilheksil tetradecil ester, oksalik asit, 2-bütil-1-oktanol, dodekan, 1-kloro-nonadekan, 3-etil-2,2-dimetilpentan, 1,1-oksibis oktan) sağlıklı insanlarla, Alzheimer hastalarını ve Parkinson hastalarını ayırt edici olarak kullanılabileceği bulgusuna varmışlardır (Tisch vd., 2013).

3. MATERYAL YÖNTEM

Bu bölümde nefes analizinin daha kapsamlı yorumlanabilmesi için solunum fizyolojisine yer verilmiştir. Ayrıca lazer sistem geliştirme ön bilgisi için, lazerin çalışma prensibinden bahsedilerek, lazer frekansının kararlaştırma yöntemleri hakkında özet bilgilere yer verilmiştir. Son olarak nefes analizinde kullanılan yöntemler anlatılmış, kurduğumuz sistem olan OA-CEAS sistemi detaylandırılmıştır.

3.1. Solunum Fizyolojisi

Solunum bir çok organın koordineli olarak çalışmasını gerektiren karmaşık bir olaydır. Vücut fonksiyonları için gerekli oksijenin havadan alınıp, vücuttan dışarı atılması gereken karbondioksitin uzaklaştırılması solunumun temel görevi olmasına karşın, vücutta gerçekleşen metabolizmalar sonucu farklı moleküller nefes yolu ile dışarı atılabilmektedir. Ortalama olarak insan nefes havasında, %78.6 nitrojen, %16 oksijen, %4.5 karbondioksit ve %0.9 oranında asal gaz ve UOB bulunmaktadır (Tortora ve Derrickson, 2008). Çok sayıda yapılan nefes analizi çalışmaları hastalıkların nefeste bulunan gazların farklı oranlarda değişikliğe sebep olduğuna ve farklı UOB'lerin nefes havasında açığa çıkabildiğini göstermişlerdir (Wang ve Sahay 2009; Risby vd., 2006; Ligor vd., 2009).

İnsan vücudu 24 saatte yaklaşık 300 litre, dakikada 1/4 litre oksijene ihtiyaç duyar. Kandaki bulunan oksijenin %2'si plazmada, %98'i alyuvarda olur (Hatiboğlu, 1984).

Solunum sistemi iki bölümde incelenir;

a) Üst solunum yolları: Göğüs boşluğunun dışında kalan kısım olup;

- burun,
- farinks (yutak),
- larinks (gırtlak) den

ibarettir.

b) Alt solunum yolları : Göğüs kafesi içinde kalan kısmı oluşturur.

Bu yol ise nefes borusunun alt bölümü

- trakea,
- bronşlar,
- bronşiyollerden

oluşur.

Solunum sisteminin beş ana fonksiyonu;

- a) Akciğer ventilasyonu ile atmosfer ve alveoller arasında havanın giriş çıkışının sağlanması
- b) Vücudun hidrojen iyon konsantrasyonunun düzenlenmesi (hidrojen konsantrasyonu akciğer ve böbrekler olmak üzere iki organ tarafından sağlanır) ,
- c) Oksijen ve karbondioksitin alveoller ve kan arasında difüzyonu,
- d) Dokular kan, vücut sıvıları arasında oksijen ve karbondioksitin taşınması,
- e) Ventilasyonun düzenlenmesi,

şeklinde sıralanabilir.

Oksijen, karbondioksit ve hidrojen iyon konsantrasyonlarının uygun düzeyde olması için solunum sistemi kimyasal reseptörler ile ortak çalışır. Solunumun kontrolü nöral ve kimyasal sistem tarafından sağlanır. Nöral sistem, solunumun derinlik ve ritminin koordineli sürdürülmesinden sorumludur. Kimyasal

sistem ise dakikadaki ventilasyon miktarından sorumludur. Dakikadaki ventilasyon kan gazları ile değerlendirilir. Kandaki karbondioksit ve hidrojen iyonlarının konsantrasyonu dakikalık ventilasyonu belirlerken, arteriyel kan gazı değerleri yaşa göre farklılık gösterebilir (Köylü, 2014). Sağlıklı kişilerin nefesinde bulunan molekül miktarları Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Sağlıklı kişilerin nefesinde bulunan molekül miktarları (Berden vd., 2000).

Nefeste Bulunan Molekül	Ortalama Nefeste Bulunana Miktar
Metan (CH ₄)	1-10 ppm
Etan (C ₂ H ₆)	0 -10 ppm
Pentan (C ₅ H ₁₂)	0-10 ppm
Nitrik Oksit (NO)	1-20 ppm
Karbon Monoksit (CO)	1-5 ppm
Karbonil Sülfid (OCS)	0 -10 ppb
Azot Oksit (N ₂ O)	5-50 ppb
İzopren(C ₅ H ₈)	50-200 ppb
Amonyak (NH ₃)	0.5-2 ppm
Aseton ((CH ₃) ₂ CO)	0.1-1ppm

Akciğer hacmi ise solunum boyunca değişmektedir. Dört temel hacim tanımlanmıştır.

Tidal Volüm (V_T): Normal bir nefes alıp verme sırasındaki nefes hacmidir. Yaklaşık 500 mL’dir.

İnspiratuvar Rezerv Volüm (İRV): Çok derin nefes alırken, tidal volümün üzerine alınabilecek ekstra hava miktarıdır. İnspirasyon yedek hacmidir. Yaklaşık 3000 mL’dir.

Ekspirasyon Rezerv Volüm (ERV): Normal bir ekspirasyon sonrası, çıkarılabilecek maksimum hava hacmidir. Yaklaşık 1100 mL’dir.

Residüel Volüm (RV): Maksimum ekspirasyondan akciğerlerde kalan havanın hacmidir. Yaklaşık 1200 mL'dir (Hall, 2015; Ackermann, 2002).

Akciğerlerde dört adet kapasite tanımlanmıştır;

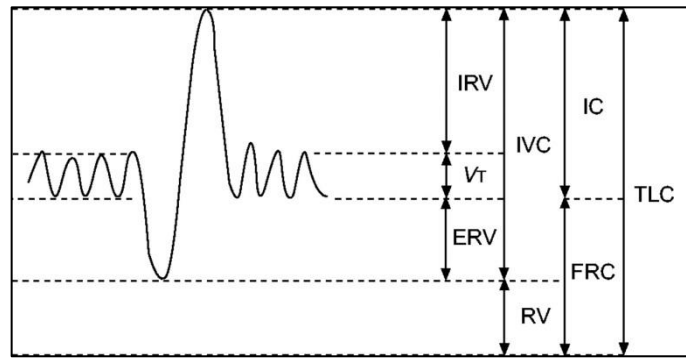
İnspiratuvar Kapasite (IC): Tidal volüm ve inspiratuvar rezerv volümün toplamıdır. 3500mL'dir.

Fonksiyonel Rezidüel Kapasite (FRC): Tidal volüm dışarı verildikten sonra akciğerde kalan havadır. 2300 mL'dir.

Vital Kapasite (VC): Tidal volüm, ekspiratuvar rezerv volüm ve inspiratuvar rezerv volümün toplamıdır. Zorlu bir nefes vermeden sonra alınabilecek maksimum hava hacmidir. Vital kapasite spirometre ile ölçülen en büyük hava hacmidir ve klinikte çok önemlidir. 4600mL'dir.

Total Akciğer Kapasitesi (TLC) : İnspiratuvar rezerv volüm, tidal volüm, ekspiratuvar rezerv volüm ve rezidüel kapasitenin toplamıdır. Maksimum nefes alma sonrası akciğerlerdeki hava miktarıdır. Rezidüel volüm içerdiği için spirometre ile ölçülemez. 5800 mL'dir(Wanger vd., 2005; Hall 2015; Costanzo, 2006).

Akciğerde kapasiteler Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



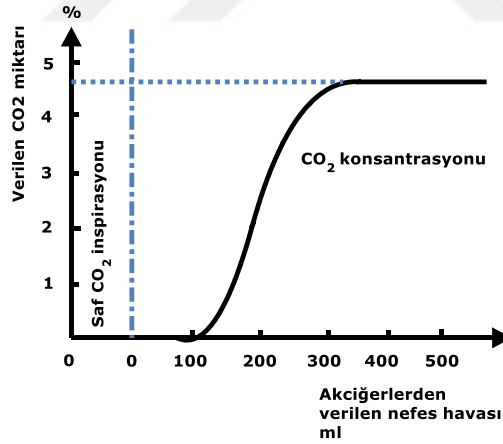
Şekil 3.1. Akciğer kapasitesi (Wanger vd., 2005)

RV/TLC oranı akciğer hastalıklarının ayırt edilmesinde kullanılır. Hasta olmayan kişilerde oran 0.25'ten küçüktür. TLC sabit iken RV'deki artış nedeniyle RV/TLC oranının yükselmesi hava yolu tıkanıklığı ile ilişkilidir. Bu durum obstrüktif akciğer hastalarında görülür. Obstrüktif hastalarda vital kapasite azalmış veya

normaldir. Bu hastalarda bronşiyoller daralır. Bu daralmadan dolayı hava akımına karşı direnç artar. Nefes verme zorlaşır ve güçleşir (Köylü, 2014).

Gaz değişiminin gerçekleşmediği akciğer alanlarındaki havaya ölü boşluk denir. Ölü boşluk anatomik ve alveoler olmak üzere iki bölümdür. Anatomik ölü boşluk, solunuma katılmayan iletim yollarından (alveol ve terminal bronşiyoller dışı) oluşur. Alveoler ölü boşluk ise perfüze olmayan alveollerden oluşur. Anatomik ve alveoler ölü boşluğun tamamı fizyolojik ölü boşluğu oluşturur. Ölü boşluk/tidal volüm oranı (0.3 yaklaşık olarak 150ml/500ml) yaşam boyu sabittir. Alveoler ölü boşluk hacminin, hastalıklar hariç, minimal olduğu bilinir. Ölü boşluğun artması patolojik bir durumdur (Severinghaus ve Stupfel, 1957; Costanzo, 2006).

Normal şartlarda soluduğumuz hava bir gaz karışımıdır. Azot, oksijen, karbondioksit ve su buharı içerir. Nefes verirken Şekil 3.2’de gösterildiği gibi belli bir süre azot ve CO₂ miktarı değişmez bu bölüm ölü boşluğun ölçülmesi için kullanılan yöntemlerden biridir (Aydın ve Aydınalp, 1986).



Şekil 3.2. Nefes verirken CO₂ konsantrasyon grafiği (Dassow vd., 2013)

Ölü boşluk ayrıca (3.1) ile hesaplanabilir.

$$V_{\text{ÖB}} = V_{\text{T}} \times \frac{P_{\text{ACO}_2} - P_{\text{ECO}_2}}{P_{\text{ACO}_2}} \quad (3.1)$$

V_{OB} , Fizyolojik ölü boşluk (mL); V_T , Tidal hacim (mL); P_{ACO_2} , alveoler CO_2 nin alveoler gaz basıncı (mmHg), P_{ECO_2} ekspire edilen havada bulunan CO_2 basıncı (mmHg) dir (Costanzo, 2006).

3.2. Lazerin Çalışma İlkesi

Lazerler (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation), tıp biliminde oldukça yaygın kullanılan bir daldır. Lazer ışık dalgaları hem uzaysal hem de zamansal uyuma sahiptirler. Lazer, uzun mesafelere aktarılabilir. Dar spektral genişliğe ve yüksek şiddete sahiptirler. Lazerlerin kısa atımlar üretebilme imkanı vardır (Silfvast, 2004).

Işık, hem dalga hem de tanecik özelliği göstermektedir. Dalga optiğinde, ışık transversal elektromanyetik dalga olarak tanımlanmıştır. Dalgaboyu (λ), frekans (f) ile ters orantılı olup ışığın hızı (c) ile doğru orantılıdır. Vakumda ışık hızı $c=2,998 \times 10^8$ m/sn dir. Dalgaboyu arttıkça frekans azalır (3.2).

$$c = \lambda \times f \quad (3.2)$$

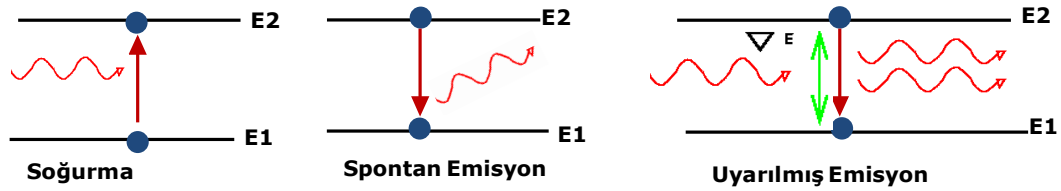
Atomlar veya moleküller E_1, E_2, E_3, \dots vs. kuantumlanmış enerji seviyelerine sahiptirler. Bu durumlardan enerji bantları oluşmuştur. Tüm atomlar (moleküller), pertürbe edilmemiş durumda en düşük enerjisi E_1 'de bulunurlar. Eğer uygun frekansta (f_{12}) ışık bir atom üzerine düşer ise, atom bir üst enerji seviyesi E_2 ye geçmek için iki enerji seviyesi arasındaki farkı ışıktan enerji çekilerek karşılanması gerekmektedir. Böylelikle foton bir üst seviyeye ulaşır ve soğurma gerçekleşmiş olur (3.3).

$$E_2 - E_1 = hf_{12} \quad (3.3)$$

Uyarılmış durumdaki atomlar belirli zaman sonra tekrar temel duruma geçerler ve bu duruma geçiş sırasında ışık rastgele saçılır. Üst enerji seviyesinde bulunan elektron daha düşük bir enerji durumuna gider ve bir foton emisyon edilir. Bu süreç spontan emisyon olarak adlandırılır. Eğer uyarılmış durumda bulunan

foton üst seviyeden alt enerji seviyesine düşerken, atom üzerine tekrar foton gönderilirse, stimüle edilmiş emisyon gerçekleşir. Fotonlar aynı fazda aynı dalga boyunda ve aynı yönlü olmak üzere yayılırlar ve gelen ışık güçlendirilmiş olarak ilerler (Şekil 3.3) (Eichler ve Eichler, 2015).

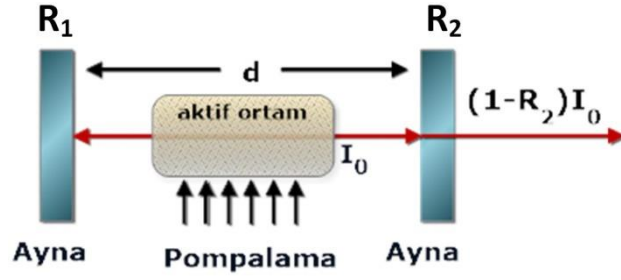
h : Planck sabiti = $6,626 \cdot 10^{-34}$ Js.



Şekil 3.3. Soğurma, b. Spontan emisyon, c. Uyarılmış emisyon (Lazerin oluşumu) (Cunyun, 2004)

Lazerlerin oluşumu için üç kısım gereklidir;

1. Aktif Ortam: Bir dış enerji kaynağından yapılan etkiyle elektronları daha yüksek bir enerji düzeyine uyarılabilecek olan atomlardan oluşan mekanizmadır. Katı kristaller, gazlar, camlar, boyalı sıvılar veya yarı iletkenlerden de oluşabilir.
2. Uyarma Mekanizması: Bu mekanizma "aktif ortama" enerji temin etmek için kullanılır. Uyarma mekanizması kimyasal, elektriksel, optik olabilir veya bunların kombinasyonlarını içerebilir.
3. Rezanatör: Genellikle mükemmel yansıtıcı ayna ve yarı saydam aynayı içerir. Rezanatör içerisinde aynalar ile lazer güçlendirilir ve yarı saydam aynadan lazer ışığı alınabilir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Lazer oluşumu için optik rezonatör (Eichler ve Eichler, 2015).

Işığın güçlendirilmesi ve lazer etkinliği eğer foton popülasyon sayılarında bir tersinme var ise ($N_2 > N_1$; N_2 üst seviyede bulunan foton sayısı, N_1 alt seviyede bulunan foton sayısı) gerçekleşir. Bu tersinmenin elde edilmesi için farklı pompalama mekanizmaları kullanılır. Kimyasal, optik ve elektriksel pompalama mekanizmaları kullanılmaktadır. Yarı iletken lazerlerin büyük bir kısmı elektrik akımı ile pompalanırlar (Paschotta, 2008).

3.3. Lazer Frekansının Kararlılaştırılması

Hassas sistemler için lazer frekansının sabitlenmesi ve sonrasında lazerin çizgi genişliğinin daraltılması için frekansın ölçülmesi ve frekans dalgalanmalarının belirlenmesi gerekmektedir ve böylece gerekli düzeltmeler yapılabilir.

Lazer ile yapılan çalışmalarda doğruluk faktörünün artırılmasındaki en önemli etmenlerden biri, frekans kararlılığı sağlamaktır. Bu alanda üç madde önemlidir;

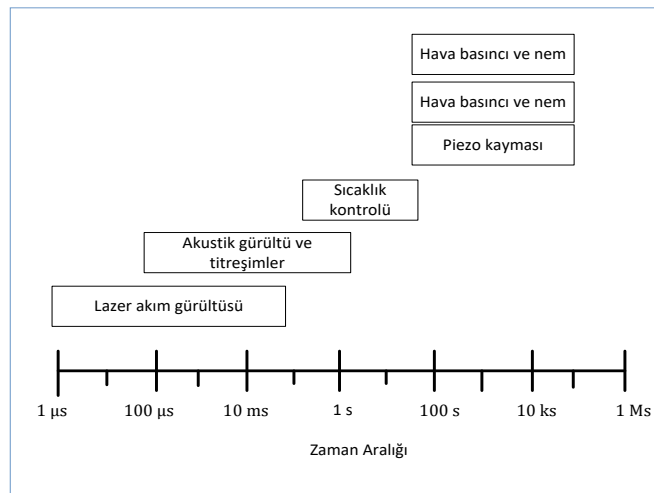
- Lazer frekansının ölçülmesi
- Çizgi genişliği
- Frekans kayması.

Frekans kayması ile çizgi genişliği arasındaki ilişki ölçüm yapılan zaman aralığına göre değişebilmektedir. Hızlı etmenler diyebileceğimiz lazer akım gürültüsü, titreşimler ve akustik gürültüler çizgi genişliği üzerinde binerken, sıcaklık ve hava basıncı frekans kaymalarına sebep olur.

Frekans dalgalanmalarının engellenmesi yöntemlerinden biri dalga boyu seçici geri beslemedir. Bu yöntemle çizgi genişliği megahertz (MHz) düzeylerinde olan lazer ışınının MHz/10s veya gigahertz (GHz) düzeyinde kaymaları şeklinde sonuçlara erişilebilir. Lazer kilitleme yöntemi kilohertz (kHz) veya hertz (Hz) mertebelerine kadar olan lazerlerde bu kaymalar ortadan kaldırılabilir.

Lazer çizgi genişliği, lazerin spektrumunda gürültüden ne kadar elimine olduğunu ifade eder ve genellikle uzun bir interferometre gecikmesi kullanılarak referans lazer kaynağı ile birlikte heterodin atışı ya da self homodin/heterodin interferometresi aracılığıyla ölçülür. Çizgi genişliği bilgisi, lazer frekans gürültü bileşenlerine ilişkin çok az bilgi sağlamaktadır. Heterodin ya da self-homodin/heterodin interferometresi gibi tekniklerle elde edilen çizgi genişliği ölçümleri ile karşılaştırıldığında, frekans spektral güç yoğunluğu, lazer gürültü bileşenleri hakkında daha detaylı bilgi vermektedir.

Literatürde, kHz çizgi genişliğine ve Hz çizgi genişliğine sahip harici kaviteli diyot lazerler mevcuttur. Bu sistemler, PDH tekniği gibi karmaşık sabitleme yöntemi ve sabit referans kaynağı olarak FPI gerektirmektedir. Diyot lazerlerinin frekans dalgalanmaları ve gürültü oluşumunun sebepleri Şekil 3.5'te verilmiştir.



Şekil 3.5. Diyot lazerlerin frekans dalgalanmaları için ana sebepler (Neuhaus, 2016)

Lazerin frekansı, çizgi genişliği ve frekans kayması arasındaki bağlantı önemlidir. Eğer bir lazerin çizgi genişliği ölçülürse, ölçüm zamanı önemlidir. Lazer frekans ölçümleri için tipik zaman çizelgeleri mikrosaniye ve saniye arasında değişir. Frekans kayması ile çizgi genişliği arasındaki ilişki, ölçümün zaman ölçeğine bağlıdır. Genellikle lazer akımı gürültüsü, titreşimler ve akustik gürültü gibi daha hızlı işlemler çizgi genişliğine eklenirken, sıcaklık ve hava basıncı değişiklikleri frekans kaymasına neden olur. Ölçüm kısa zaman ölçeklerinde (μs , yani çok hızlı bir şekilde) yapılırsa, akustik gürültü ve titreşimler çizgi genişliği ölçümünde gösterilmez, ancak ardışık ölçümlerin değişimine katkıda bulunur. Bu nedenle çizgi genişliği, yalnızca ilgili bir zaman ölçeğinde anlamlıdır. Ana gürültü kaynakları, çizgi genişliğine ve frekans kaymasına katkıda bulunan kaynaklardır.

3.4. Nefes Analizinde Kullanılan Yöntemler

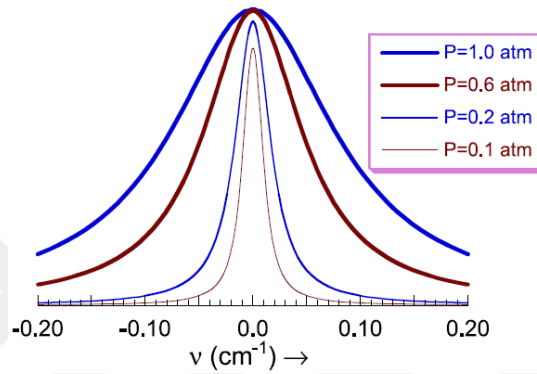
Nefes analizi için yöntemler, optik ve analitik olmak üzere iki temel başlık altında toplanmıştır.

3.4.1. Optik yöntemler

Nefes analizleri, optik olarak lazer spektrometre ile gerçekleştirilmektedir. Lazerde pozitif geri besleme, bir çift aynanın arasına kazanç ortamının yerleştirilmesi ile optiksel rezonatör oluşturacak şekilde sağlanır. Lazer ışığı ortam boyunca ilerlerken şiddetlendirilir ve aynalardan geri beslenir. ECL'de optik geri besleme için genellikle optik kırınım ağı ayna ve mercekler kullanılır. Kazanç değerinde harici optik elemanların etkisini arttırmak amacıyla, iç geribeslemede genellikle küçük oranda yansıtıcılıkta ayna kullanılması tercih edilir ($R < \%1$). Büyük oranda dış kaviteye ulaşan lazer kavitede güçlendirilir. Lazer aynaları fotonları tutarak, yeniden lazer ortamına sokulmasını sağlarlar. Bir taraftaki aynanın kısmen geçirgen olması ile, fotonların bir kısmı dışarı salınır ve lazer demetini oluştururlar.

Farklı dalga boyu aralıklarına ulaşmak için farklı diyot lazerleri kullanılabilir. Örneğin, InGaAsP/InP (900 nm ile 1.6 μm arasında), InGaAsP/InAsP (1.6 μm ile 2.2 μm arasında vb.) Bu lazer sistemlerinin dalga boyları sıcaklık değişimi ile veya lazere verilen akımın değiştirilmesi ile değiştirilebilir (Duarte, 1996).

Küçük molekül saptanması sırasında, daha hassas yöntemler seçilmelidir. Ayrıca basıncın düşürülmesi gerekir. Bu şekilde molekül çarpışmaları azaltılır ve soğurma çizgisi daha net olarak bilinebilir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Soğurmanın basınca göre değişimi (Kosterev vd., 2001)

Ayrıca lazerin gaz hücresi içerisinde uzun yol alması ile hassasiyetlik artırılabilir. Soğurma için ilk gereksinim temel soğurma bandının seçilmesidir. Uzun yol alan sistemin kurulmasında çoklu geçirgen (multi-pass) hücreler veya kavite artırma teknikleri kullanılmalıdır. Lazer soğurma spektrometrelerinde verimi artırmanın bir diğer yolu ise, soğurma ortamında ışığın geçtiği yolu artırmaktır. Bu yolu artırmanın yollarından biri de sisteme kavite eklemektir. Sistemde kullanılan kavite içerisinde yansıtıcı aynalar bulunur ve lazer ışığının çok kez yansıtılması ile soğrulan ortam içinde uzun yol alması sağlanır. Kavite, dış kavite olarak yerleştirilebileceği gibi iç kavite olarak da yerleştirilebilir. İç kavite kullanımı, yüksek hassasiyet sağlamaktadır ancak pratik uygulanabilirliği doğrusal olmayan işlemlerle sınırlıdır. Dış kavite olarak çoklu geçirgen tipi, Herriott ve White hücreleri kullanılır. Rezonant kavitelerin zorluğu yüksek finessesine sahip kavitede dar kavite modlarını gerektirmeleridir. Genellikle kHz mertebesinde daha düşük seviyelerde kavite modlarına sahiptirler. Özellikle soğurma olan bölgede, lazer güç dalgalanmaları ile oluşan gürültü bastırılmalıdır. Hassasiyetin artırılması için, uzun yapılan tasarımlar etanolların

oluşumuna sebep olur. Prensipde bu olay, soğurma hücresinin “sıfır hava (N_2 , N_2O_2)” ile doldurulması ile engellenebilir. Sıfır havanın en önemli özelliği hiçbir lazer ışınına soğurmamasıdır.

Arkaplan gazı olan sıfır hava ile incelenecek olan gaz belirli oranlarda karıştırılarak iletilmelidir. Etalonlar tabanda moleküllerin saptanma hassaslıklarını engellerler. Etalonlar ayrıca soğurma hücrelerinde eğimli pencereler kullanarak en aza indirilebilir.

Sıfır hava arkaplan çıkarma tekniği girişimsel etkileri bastırmak için kullanılır. Sıfır sinyali ortam havasından çıkarılır ve sıfır hava sinyaline normalize edilir.

Nefes analizinde kullanılan optik gaz sensörleri aşağıdaki bileşenlere sahip olmalıdır;

1. Lazer sistem
2. Gaz soğurma hücresi
3. Gaz akış sistemi

Akış oranı kontrol oranını bulmak ve konsantrasyon ölçümlerini düşük güçlü basınç altında ölçebilmek, çizgi genişlemesinde girişimleri minimize etmek için kullanılır.

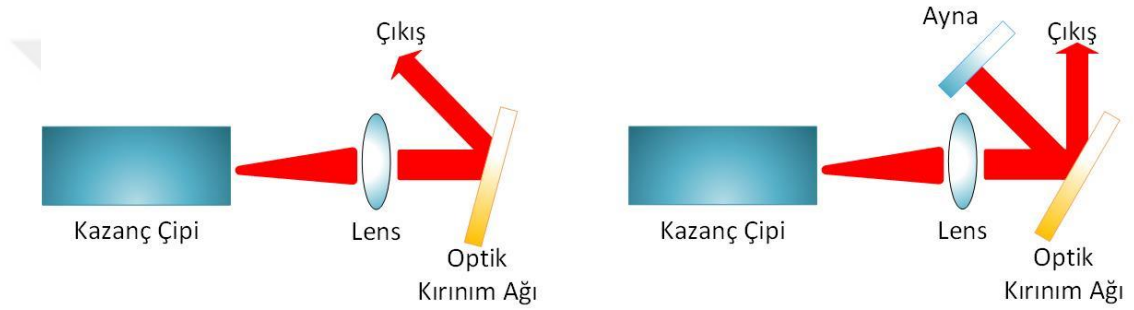
4. Tıbbi medikal torbalar

Nefes gazı toplamak için kullanılırlar. Bu medikal torbalarda, 2 adet vana bulunmalıdır. Bunlardan birisi nefes verirken, geri nefes almaları engelleyici diğeri, örnekleme apartına nefesi geçirecek şekilde iletici olmalıdır. Geri nefes almayı önleyici vana, bakteri ve virütik bulaşmalara karşı etkili olmalıdır.

Nefes analizinde kullanılan bazı temel tekniklere aşağıda yer verilmiştir.

3.4.1.1. ECL ve Dalga boyu ayarlanabilir lazer kaynağı (TDLAS; Tunable diode laser absorption spectroscopy)

ECL konfigürasyonları çok çeşitli şekilde oluşturulabilmektedir. İki adet ECL konfigürasyonu yaygın olarak kullanılmaktadır (Duarte 1996) (Şekil 3.7). ECL konfigürasyonunda optik kırınım ağı dalga boyu seçici eleman olarak kullanılır. Optik kırınım ağının açısının değiştirilebilmesi ile seçilen dalga boyu güçlendirilerek, diğer dalga boylarının saçılarak sönmümlenmesi sağlanır. Böylelikle istenilen dalga boyunda lazer elde edilmiş olur.



Şekil 3.7. a. Littrow konfigürasyonu
(Nasim ve Jamil, 2013)

b. Littman-Metcalf konfigürasyonu

Nefes analizi için kullanılan dalga boyu ayarlanabilir sistemlerden olan TDLAS (Tunable diode laser absorption spectroscopy) (Mihalcea vd., 1996) dalga boyu ayarlanabilir lazer kaynağı, lazer ışığı hüzmeye şeklini ayarlayan optik bileşenler, soğurulan ortam ve dedektörden oluşur. TDLAS sisteminde dalga boyu ayarlanabilir lazerler olarak, DFB (distributed feedback; dağıtılmış geri beslemeli) lazer ve VCSEL (vertical-cavity surface-emitting laser; Dikey boşluklu yüzeyden yayımlayan lazer, vb.) kullanılır. Lazer spektroskopi sisteminin dalga boyu, araştırılacak olan molekülün soğurma yaptığı dalga boyuna göre ayarlanır. Soğurma sonucu, lazer ışık şiddetinde düşme meydana gelir ve bu düşme dedektör ile saptanabilir. Bunun ile soğurulan gaz miktarı saptanabilir (Milonni ve Eberly, 2010).

3.4.1.2. ICOS ve CEAS

CEAS ilk olarak Engeln vd. (1998), tarafından kullanılmıştır ve ICOS ilk olarak aynı yıl O'Keefe vd. (1999) tarafından kullanılmıştır.

ICOS ve CEAS, CDRS'ye göre, soğurma için duyarlılığı arttırılmış yüksek incelikli bir optik kaviteden faydalanmak için daha basit bir yöntem olarak geliştirilmiştir. ICOS ve CEAS terimleri eş anlamlı olarak kullanılırlar, yalnız ICOS'da darbeli uyarım kullanılmaktayken ve CEAS'da CW (sürekli dalgalı lazer) kavite uyarımı kullanılmaktadır.

CEAS ve CRDS sistemlerinde lazer ışını, yüksek finesseye sahip kavite içerisine, kavite uzunluğunu hareket ettirilmesi ile kavitenin tekli modları ile lazer ışının rastgele çakışması sağlanarak kaviteyle eşleştirilir (kuplaj). ICOS'da kavite uzunluğu ve/veya lazer frekansı, kaviteye giren ışının giriş eşleşmesini rastgeleleştirmek için soğurma profilinin tarama zamanından çok daha hızlı bir sürede hareket ettirilir. Kavite çıktısı ise, hareket ettirme süresinden biraz daha uzun ve yayılma zamanından biraz daha kısa bir sürede entegre edilir. Kaviteden geçen yoğunluk ışını ile entegre zamanın ortalaması pek çok kavite modu üzerinden alınmalıdır. Kavite ortamının soğurulmasını tespit etmek için kullanılabilir. CRDS'de olduğu gibi, birkaç km'lik etkin optik yol uzunluğu çok küçük kavite hacmi ile elde edilebilir.

Denklemlerden (3.4) ve (3.5), hem CW hem de darbeli uyarım için geçerli olduğundan CEAS ve ICOS arasında veri analizi bakımından herhangi bir fark yoktur. I_0 kaviteye giren ışık, I kaviteden çıkan ışık olarak, R ayna yansıma katsayısı ve d kavite uzunluğu olarak alındığında, denklem aşağıdaki gibi yazılabilir. CEAS ve ICOS, her iki yöntemde de soğurma katsayılarını çıkartmak için kullanılır.

$$\alpha = \left(\frac{I_0}{I} - 1 \right) \left(\frac{1-R}{d} \right) \quad (3.4)$$

ICOS hücresinin, kavite ışık ömrü (τ)(Berden, ve Engeln 2009);

$$\tau = L_{\text{kavite}} / (c[1-R]) \quad (3.5)$$

olduğu noktada $f_{3\text{-dB}} = 1/2(2\pi\tau)$ tarafından verilen 3-dB kesim frekansı ile düşük geçişli frekans tepkisine sahiptir. Bu frekans tepkisi, modülasyon frekansı ve tespit bant genişliği seçilirken hesaba katılmalıdır.

Verilerden gerçek uzunluk başına düşen soğurmayı çıkartmak için, verilen geometrik konfigürasyonda etkin boş-kavite yol uzunluğunu belirlemek zorunludur. Bu amaçla, kalibrasyon deneyleri genellikle $N_2\text{-CO}_2$ gibi bilinen konsantrasyonların bir karışımı kullanılarak gerçekleştirilir.

OA-CEAS: Dar bant soğurma rezonanslarına göre ayarlanan tek mod lazerlerle uygulanan CRDS, OA-CEAS tekniğinde kullanılmak istendiğinde problemlere yol açar. En basit şekilde, lazerin kavite ile rezonansa olup olmasına bağlı olarak kavite iletimi büyük ölçüde değiştiği için gürültü seviyeleri oldukça yüksektir. Etkin bir ortalama çıkarmayı ise gürültü engeller (O'Keefe ve Deacon, 1988).

Bir optik kavite ancak kavite moduna göre eksiksiz olarak ayarlanmışsa ışığı etkili olarak depolar. Kavite modu ve lazer frekansını (soğurma çizgisi ile) eşitlemek için, kavite içerisinde ışık, geribildirim döngüsü ile kullanılan piezoelektrik elementli bir aynanın pozisyonunun kontrolü ile defalarca yönlendirilerek yansıtılır. Bu aşamada ışık dedektör ile tespit edilir. Eksen dışı tasarımda ayrıca kaviteden ışık kaynağına geri dönebilecek ışığın engellenmesi gerekir. Bu özellikle diyot lazerler kullanıldığında önemlidir. OA-CEAS sıradan bir CRDS ile karşılaştırıldığında, hava akımları ve küçük mekanik dengesizliklerden ortaya çıkan kırıcı gösterge değişmelerinin sebep olduğu gürültülere daha az duyarlıdır (Wojtas vd., 2012).

OA-CEAS'da kavite iletiminin frekans bağıllığı, lazer ışığı ana eksene göre bir açıyla kavite ile eşlenerek daha da azaltılır. Bu yöntem etkin bir şekilde

kavitenin FSR'sini düşürür ve çok yoğun bir kavite modü spektrumu oluşturur. Bu eksensel mod aralıkları o kadar sıklaşır ki kavite iletimi nerdeyse lazerin dalga boyundan bağımsız bir hale getirir.

Modların sürekliliği kavite iletimi spektrumunun ortalamasını daha etkin bir şekilde alınmasını sağlar, böylece tespitin duyarlılığında gözle görülür bir ilerleme olur. Klasik CRDS'de optik kavite özellikle TEM₀₀ modü baskın olacak şekilde dikkatlice hizalanır. Bu lazer ışınının kavite eksenine kesişecek şekilde hizalanmasıyla gerçekleştirilir. OA-CEAS'da ise, lazer ışınının kavite eksenine göre küçük bir açı ile yerleştirilmesi durumunda, TEM₀₀ ; TEM₀₁ ; TEM₀₂ ;.. TEM_{mn} olmak üzere çok sayıda döngü modü oluşur. Kavite iletim spektrumları böylelikle farklı modların frekanslarına denk gelen çok sayıda piklerden oluşur. Oluşan piklerin şiddeti lazerle kavite modlarının kesişmesine bağlıdır. Yüksek modlara gidildikçe (TEM_{mn}), döngü FSR si TEM₀₀ moduyla karşılaştırıldığında (n + m) kat küçülür ve modların sıklığı artar. OA-CEAS'da, kavite modlarının sıklığı artması ve modların sürekliliğe yaklaşması için kavite dikkatli bir şekilde eksenden çıkarılır. Işının kavite içinde çok sayıda yansımadan geçmesi ile, uzun bir yol mesafesine sahip olması sağlanır. İdeal olarak, modların sürekliliği sağlanıp, lazer ayarlandığında, çıkan ışığın sıklığı lazerin frekansına bağlı olmamalıdır. Böylelikle, eğer soğurgan bir gaz türü kavitede ise, kaviteden çıkan ışığın sıklığındaki düşmeler o türe özel soğurma spektrumunu belirtir (Berden ve Engeln 2009; Maddaloni vd., 2006).

Farklı moleküllerin konsantrasyon ölçümleri için, OA-CEAS'ın her defasında kalibrasyonu için yeniden hizalanması gerekir. OA-CEAS nefes analizi cihazı ayarının kritik bir tasarımı için, kavitenin içinde birden fazla lazer ışınının yansımalarına izin verecek büyüklükte kavite aynalarının kullanılması sırasında ayna yüzeylerinde ışın kesişmelerinin olmamasıdır. Bu kesişmeler, sıçramaların (fringe) kontrastını azaltır ve yüksek bir SNR sağlar. Sabit iki aynadan oluşan bir kavitede eksen dışı ışın yayılması ilk defa Herriott, Kogelnik ve Kompfner (1964), tarafından analiz edilmiştir. Burada kullanılan kavite aşağıdaki (3.6) sabitlik durumunu karşılar:

$$0 < \left(1 - \frac{L}{r}\right)^2 < 1 \quad (3.6)$$

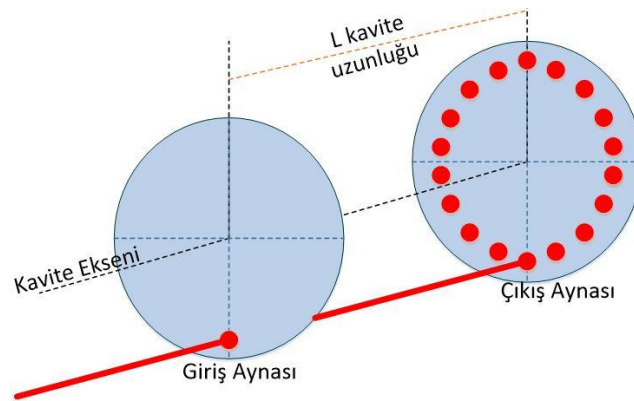
L aynaların arasındaki mesafe iken (kavite uzunluğu) ve $r = r_1 = r_2$ ayna içbükeyinin yarıçapıdır (ör., kavite iki özdeş küresel ayna tarafından oluşturulur). Işının bir gidiş geliş dönüşünün açısı olan 2θ yalnızca ayna aralığı ve eğim derecesi (3.7) tarafından belirlenir:

$$\cos\theta = 1 - \frac{L}{r} \quad (3.7)$$

Yeniden giriş durumu Denklem (3.8) gibi sağlanırsa karşlanır;

$$2m\theta = 2n\pi \quad (3.8)$$

m ışının gidiş gelişlerinin sayısıyken, n ise bir tam sayıdır ve her m gidiş gelişinin ardından ışın yolunu tekrarlamaya başlar. Böyle bir kavite modunun spektral boşluk aralığı, FSR (Free Spectral Range) $c/(2Lm)$ dir. OA-CEAS için ışınları kesiştirmeden elde edilebilecek en yüksek m değeri istenmektedir. Bu nedenle ayna aralıkları düşük m durumunun önüne geçilecek şekilde seçilmelidir. Örnek olarak, eş odaklı yansıtıcı $m = 2$ tekrar giriş durumunu karşılar. Şekil 3.8'de eksen dışı ışın yayılması gösterilmiştir.



Şekil 3.8. Eksen dışı ışın yayılması. L kavite uzunluğu, Noktalar döngünün gidiş geliş yapıldığını göstermektedir.

CEAS için olan ideal durum, lazer çizgi genişliğinin, etkin döngünün FSR'sinden oldukça küçük olduğu durumlarda elde edilir. Bu durum karşılandığında, ışığın

geri yansması yok olur ve kavite çıkışı dar bir aralıkta yer alan lazer frekansına bağlı olmaz, böylelikle lazer moddan moda tararken oluşan iletim değişimlerinden dolayı ortaya çıkan gürültüyü etkili bir şekilde engeller. Yine de, pratikte, FSR'i küçük bir birim ve dar lazer bant genişliği elde edecek kadar küçültmek oldukça zordur. Onun yerine, bant kontrastı düşürülüp, sinyal elde edilerek, lazer frekansı hızlıca kavite modu arasından taranabilir ve/veya kavite aynalarından biri titreştirilerek kavite modlarında rastgele bir titreşim yaratılabilir. Piezoelektrik harekete geçirici bir ayna yerinden oynatma aynı ortalama alma durumundayken daha iyi bir SNR (sinyal gürültü oranı) sağlar, böylece duyarlılığı artırır.

OA-CEAS'ta da CEAS da olduğu gibi çıkış sinyali dedektör ile bilgisayar veya osiloskop üzerinden alınır. Çok sayıda taramanın ortalamasının alınması ile soğurmanın yapıldığı alan hesaplanır. Elde edilen alan üzerinden, araştırılan gazın miktarı yüksek hassasiyet ile tespit edilebilir.

Sıradan bir CEAS kavitesinin 0.5 m ile 1 m arasında değişen yol uzunluğu vardır. Bu gibi bir kavitedeki aynalar mor ötesinden (≈ 300 nm) kızılötesi spektral bölgesine kadar ($10 \mu\text{m}$) belli bir dalga uzunluğu için tasarlanabilir. kızılötesi alanında %99.5-99.99 oranında yüksek yansıtıcılı kaplamaları piyasadan elde etmek mümkündür. Bunlar ayna yansıtıcılığında çok küçük farklar olsa da, ışığın alacağı yol bakımından oldukça etkilidirler. Örneğin, %99.98 yansıtıcı aynalarla donatılmış bir 0.5 m. uzunluğundaki bir kavite de ışık ≈ 2500 m yol alabilirken, %99.99 yansıtıcılıkta bir ayna kullanıldığında, ışık ile 5000 m etkin yol alabilir. Bu yol uzunlukları, $10 \mu\text{s}$ 'yi aşan döngü zamanları ortaya çıkartır.

OA-CEAS ile gerçek zamanlı bir nefes ölçücü bir sistem tasarlarırken bir bazı etmenler göz önüne alınmalıdır. Dolum zamanının azaltılması için, kavite birim hacim küçültülebilir. Aynı zamanda, lazerin kavite içerisine ulaştığı noktaların aralıklarını en yüksek derecede tutup eksenel yansımalarından gelen parazit oluşumu engellemek amacıyla aynalar olabildiğince büyük olmalıdır. Klinik uygulamalarda, sistemin muayenelere küçük bir masa üzerinde taşınabilecek

bir boyutta olması gerekir ve boyutunun küçüklüğü ayrıca birimin fiziksel uzunluğunun da kısıtlanmasına bağlıdır.

3.4.1.3. CRDS

CRDS ilk olarak O'Keefe ve Deacon (1988), tarafından bulunmuştur. Ultra yüksek yansıtıcılı iç bükey aynalardan oluşan bir kavitede depolanan lazer ışınlarının bozulma oranının gözlemlenmesine dayanmaktadır. CRDS sisteminin kurulum aşamaları temel olarak aşağıda verilmiştir.

- a) Lazer frekansı, ilgili soğurma çizgisi boyunca yavaşça taranır.
- b) Kavite aynalarının biri, lazer frekansının kavite modu ile lazer frekansının rastgele ve periyodik olarak çakışması için ileri geri hareket eder.
- c) Belirtilen aşamalardan sonra rezonans ortaya çıkar ve kavite doldurulur (örn. gaz), kaviteye giren lazer ışını ansızın müdahaleye uğrar ve rezonans dışı kalır ve çıkan ışının bozulma oranı ölçülür;

Bozulma oranı (kavite zaman sabitinin tersi) şunlarla belirlenir;

- a) Ayna soğurması ve saçılma
- b) Örnek gazın dalga uzunluğuna bağlı soğurma kaybı

CRDS için kullanılan kavite CEAS ve ICOS için kullanılan kavite ile benzer özelliklere sahiptirler. Lazer ışığına etkin olarak genellikle 1-10 km yol aldırılabilirken, bazı çalışmalarda 100 km'ye kadar yol alabilirdiği görülmüştür.

Aynalar üzerindeki yoğunlaşmadan, aynalara herhangi bir hasar vermeden 70°C'ye ya da daha yüksek ısıya ısıtarak kaçınılabılır. CRDS için çıkış yoğunluğu, giriş yoğunluğunun %10'u kadar olur.

CRDS bir direkt soğurma tekniğidir ve darbeli ya da devamlı ışık kaynaklarıyla gerçekleştirilebilir. Bu teknikte lazer darbesi kısadır ve büyük fiziksel kavite uzunluğu ile karşılaştırıldığında küçük bir koherans uzunluğu vardır. Bu

koşullar altında girişim etkilerinden kaçınılır ve kavite darbelerinin yoğunluğu bir zaman sabiti (τ) ile katlanarak bozulur (3.6):

$$\tau = \frac{1}{c} \frac{1}{\alpha l - \ln R} \quad (3.6)$$

Bu formülde α intrakavite ortamının soğurma katsayısını, l kavite uzunluğunu ve R aynanın yansıtıcılığını temsil etmektedir (her iki aynanın da aynı yansıtıcılığa sahip olduğu ve ortamın kırınım indeksinin 1 olduğu varsayılmıştır). Eğer ayna yansıtıcılığı için sıradan yüksek değerler kullanılırsa ($R \rightarrow 1$), formül (4.13) gibi tekrar yazılabilir.

$$\tau = \frac{l}{c[(1-R)+\alpha l]} \quad (3.7)$$

α 'nın belirlenebilmesi için yüksek duyarlılık elde etmek amacıyla bozulma zamanlarının olabildiğince uzun olması gerekmektedir. Bundan dolayı, kavite aynalarının yansıtıcılığı olabildiğince yüksek olmalıdır.

Ardışık yayılan darbeler arasındaki zaman bozulması, $\tau_R = 2L/c$ kavite döngü zamanına eşittir. Yeterli derecede kısa giriş darbesi ($\tau_P < \tau_R$) elde etmek için T_R zaman ayırımına ve giderek azalan bir yoğunluğa sahip bir darbe dizisinden oluşmaktadır. Daha uzun darbeler için ($\tau_P > \tau_R$) bu darbeler zaman içinde çakışır ve aktarılan yoğunluğun kuasi-devamlı (quasi-continuous) bozulması gözlemlenir. Giriş darbelerinin yerine bir rezonatör de CW ışınımı ile aydınlatılabilir.

CRDS, bir yandan yüksek duyarlılık ve soğurma katsayısı için kesin bir değer sunarken (örneğin, ikincil kalibrasyon sonuçlarına gerek olmazken), titreşimlere karşı duyarlıdır ve zorlayıcı kavite rezonans koşulları gerektirir. CRDS'nin bir kısıtlaması da, bozulmasının kısa zaman ölçeği nedeniyle yüksek hızlı elektroniğe bağımlı olmasıdır.

3.4.1.4. COMB

Frekans tarakları, başlangıçta frekans sayaçları olarak işlev görmek üzere geliştirilmiştir. Bu amacın yanında, frekans tarakları doğrudan spektroskopi için de kullanılabilir. Çeşitli doğrudan frekans tarağı spektrometresi yöntemleri vardır. Örneğin, çift taraklı spektroskopi, kaviteli tarak spektroskopisi, mid-IR taraklı spektrometresi gibi sistemler mevcuttur. Bu tekniklerin tamamı, genellikle, bir numuneyle etkileşime girdikten sonra bir frekans tarağı tarafından üretilen ışığın analizine dayanır.

Kavite optik frekans tarağı spektroskopisinde, iç kavite soğurma sinyali çok geçişli kavite etkisiyle arttırılır ve iç kavite soğurması ile beraber ve soğurmasız olarak yüksek ince optik kaviteden iletilen bir ışıkla karşılaştırılarak ortaya çıkarılır. Her frekans tarağı bileşeni kendisine karşılık gelen kavite yankılama moduyla eşleştirilir (Thorpe vd., 2008).

Lazer güç değişimlerini ve lazer çıkışındaki frekans sapmalarının en aza indirmek için sabit bir frekans tarağıyla beraber kuvvetli bir şekilde moda kitlenir. Saptama haznesinin içindeki gaz akışı sadece yetecek kadar düşük bir (< 10 litre/dk) seviyede tutulur ki akış kat halinde olur ve kavite içi basınç en aza indirilir. Tarak modlarını kaviteye eşleştirirken oluşan mekanik seslerin etkisini daha da azaltmak için, tarak frekansları kavite modlarının üstünde titreştirilir ve böylece tarak frekansları onlara karşılık gelen kavite modlarıyla bir kavite ömründen daha az bir süre rezonans halinde olur. Bir kavite ömrü sırasında, kavite aynalarını hareketleri mekanik ses az olduğundan ve böylelikle kaviteden iletilen gücün değişimlerinden ortaya çıkan kavite içi faz sesi de azdır.

3.4.1.5. PAS

PAS prensipte hassas gaz tespiti için kullanılmaktadır. Foto akustik etkiyi baz alan bu yöntemde akustik dalgalar, ışının soğrulmasına neden olur. Lazer spektroskopisindeki uygulamasında lazer ışını, hedef olarak seçilen gaza özel olarak tasarlanmış bir hücrede etki eder.

Darbeleri ya da kesik CW lazer kaynakları ile moleküllerin soğurulması esnasında geçici bir ısı artışı ortaya çıkartır. Bu noktada bir basınç değişimi ya da ses dalgası ortaya çıkar. Bu durum duyarlı bir mikrofon ile tespit edilebilir. Akustik sinyalin şiddeti direkt olarak hücredeki moleküllerin soğrulma konsantrasyonu ile ilgilidir. PAS sinyali;

- a) Lazer ışınının, moleküller tarafından uygun dalga boyunda soğurulması ve ısı salınımı,
- b) Gaz numunesinin periyodik olarak ısınması nedeniyle akustik dalga oluşması,
- c) PAS hücresindeki akustik sinyalin belirlenmesi (Elia vd., 2006).

ile tanımlanır.

Lazerin uzun yol alması, sinyal bilgisini arttırır, PAS hücresi tasarımı bu ilkeye göre yapılandırılır (Hodgkinson ve Tatam, 2013). Gaz moleküllerinin tespiti için, dedeksiyon limiti, minimum saptanabilir PAS sinyali (ses basıncı) P_{min} ile elde edilir, lazer gücü W_l , PAS hücresinin kurulum sabiti C ve lazer absorpsiyon yol uzunluğu L ; ile soğurma elde edilebilir (Miklós vd., 2001) (3.8).

$$\text{soğurma} = \alpha_{min}(v)L = \frac{P_{min}L}{CW_l} \quad (3.8)$$

Foto akustik tekniğin anahtar özellikleri:

- Watt değerinde kuvvetlere sahip sub-ppbv konsantrasyonlara kadar mükemmel tespit duyarlılığı sunması,
- Yüksek bir dinamik aralığa sahip olması,
- PAS dedektör tepkisinin neredeyse pompa dalga uzunluğundan bağımsız olması,
- PAS sinyalinin soğrulan ışın yoğunluğu ile direkt olarak doğru orantılı olması fakat yol uzunluğu ile daha önceden bahsi geçen sinyal güçlendirme teknikleri ile ölçeklendirilmemesidir.

Foto akustik gaz karışımlarının tespit edilmesine yeni bir yaklaşım olarak ortaya çıkan kuvars ayarlama çatalı (QTF-Quartz Tuning Fork), bir fazlasıyla rezonant güç çevirici olarak ilk olarak 2002’de kullanılmaya başlanmıştır. Kuvars yükseltmeli Foto akustik spektroskopisi (QEPAS) olarak anılan bu tekniğin avantajları, çevredeki akustik gürültüye bağımsızlığa sahip sensörler de dâhil olmak üzere geleneksel rezonant Foto akustik spektroskopisi ile karşılaştırıldığında, basit bir soğurma tespit modeli tasarımıdır ve spektral olarak seçici herhangi bir elemente ihtiyaç duymaz. Çeşitli basınç aralıklarında uygulanabilir ve bu basınç aralıklarına atmosfer basıncı da dâhildir. Hacim bakımından 1mm³e kadar küçük gaz örneklerini analiz edebilir.

Geleneksel PAS ile kıyaslanabilir QEPAS tepkisinin optik soğurması S aşağıda verilen Denklem (3.9) ile açıklanabilir.

$$S = k \frac{\alpha l C P Q}{f V} \quad (3.9)$$

Yukarıdaki denklemde α hedef gaz türlerinin birim başına düşen konsantrasyonunun katsayısını, C hedef türlerin konsantrasyonunu, P uygulanan optik gücü, f QEPAS ses frekansını, V rezonatör hacmini ve k diğer sistem parametrelerini açıklayan sabiti temsil etmektedir. Q, QTF’in nitelik faktörüdür ve tipik olarak taşıyıcı gaza ve gaz basıncına bağlı olarak 104 ile 105 arasında değişiklik gösterir.

Minimum optik soğurma katsayısı N’nin gürültü düzeyi olduğu S=N koşulu tarafından belirlenen PAS tabanlı sensör ile tespit edilebilir.

3.4.1.6. Algılama (Deteksiyon) limitleri

CRDS için soğurma katsayısındaki belirsizlik $\Delta\alpha$ (3.10) ve (3.11) işleminden $\tau \rightarrow \tau_0$ ile çıkarılabilir (Gagliardi, ve Loock, 2014):

$$\Delta\alpha = \frac{\Delta\tau}{\tau_0^2} \cdot \frac{1}{c} \quad (3.10)$$

Ring-down kavite zamanındaki standart sapma $\Delta\tau$ olarak kullanılır.

$$\Delta\alpha = \frac{\Delta I}{I_0} \cdot \frac{1-R}{1} \quad (3.11)$$

Koyulduğu yerde yoğunluk değişimlerini belirten ΔI , ya doğal olarak ışık kaynağından dolayı ya da mod değişimleri tarafından uyarılması ile ortaya çıkar. Gürültüye karşı soğurmanın (NEA) saptama sınırını bulmak için (3.12) kullanılır:

$$NEA = \Delta\alpha \sqrt{\frac{2}{f}} \quad (3.12)$$

f ölçümlerin tekrar oranını göstermektedir. Örneğin 1 s' lik aralıklardaki ortalamaların sayısı gibidir.

3.4.2. Analitik yöntemler

- Gaz Kromatografisi – Kütle Spektrometrisi (GC/MS),
- Proton Transfer Reaksiyonu – Kütle Spektrometrisi (PTR/MS),
- Seçilmiş İyon Akış Tüpü – Kütle Spektrometrisi (SIFT/MS),
- Elektronik Burun
- Kolorimetrik Analizler
- Verilen Nefesin Yoğunlaştırılması (EBC), gibi çeşitli yöntemlerle uygulanabilir.

Şimdiye kadar nefes analizi için yaygın kullanılan yöntemlerden birisi GC-MS'dir. Çalışmamızda TD-GC/MS ile ortak kullanılmıştır.

3.4.2.1. GC/MS

GC/MS, nefes analizinde aktif kullanılan cihazlardan birisidir. GC/MS, gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisi sistemlerinin birleşiminden oluşan

molekülleri tanımlamak için kullanılan cihazdır. Kütle spektrometrisi (MS) son derece hassas ve çok küçük miktarlarda analit molekülleri tespit edebilme kabiliyetinde olmasına karşın, karışımda çeşitli moleküller olması durumunda molekülleri birbirinden ayırtıramamaktadır. Bu yüzden MS önüne gaz kromatografisi (GC), konumlandırılarak tanımlanmak istenen karışımdaki bileşenleri ayrılabilir. GC bölümünde moleküller bir elektron-darbe iyon kaynağı tarafından iyonlaştırılır ve bölümlere ayrılır. Bu işlem sırasında tüm moleküller enerjili elektronlarla bombardıman edilir ve elektrostatik kuvvetler tanımlanacak olan molekülün elektron kaybederek iyonlaşmasını sağlarlar. Bombardımanın ilerletilmesi iyonların fragmanlara dönüşmesine neden olur. MS gaz anyon ve kationların elektrik ve manyetik alan vasıtasıyla uzun süre tutulmasını sağlayacak şekilde yapılmıştır. Kütle analizörüne giren iyonlar burada m/z (kütle-yük oranı) değerlerine göre sıralanırlar. İyonların çoğu tek değerlidir ve ayrılan iyonlar bir iyon dedektörüyle ölçülmektedir.

GC/MS gibi hibrit sistemler bir çok biyoişaret içerisinde iyi tanımlama yeteneğine sahip olmasına karşın, büyük kompleks bir yapıya sahip olup, uzun ayırıştırma zamanı gerektirmektedirler. GC/MS ile bir çok nefes analiz çalışmaları yapılmıştır. Örnek olarak, bir çalışmada, karaciğer rahatsızlığı olan hastalarda, dimetil sulfit, aseton, 2-butanon ve 2-pentanon miktarlarının yüksek olduğu görülmüştür (Van den Velde vd., 2008).

3.4.2.2. PTR/MS

PTR/MS ile havada karışım halinde milyarda bir bulunan gazların ölçülmesini kimyasal iyonlaşma H_3O^+ ile sağlanmıştır (Hansel vd., 1995). Neredeyse tüm UOB'ların protona olan yatkınlıkları H_2O 'dan fazladır, dolayısıyla her çarpışmada proton transferi meydana gelir. UOB'ların H_3O^+ den proton alarak iyonize edilmesinden sonra, kütle tiplerine göre analiz edilirler. PTR/MS de havanın önceden hazırlanmasına gerek yoktur ve hemen analiz edilebilir. N_2 , CO_2 , O_2 , H_2O içeren bileşikler ile reaksiyona girmediği için yüksek duyarlılıkta analizler elde edilebilir (Amann vd., 2004).

PTR/MS ile akciğer kanseri olan hastalarının nefeslerinin incelediği bir çalışmada, formaldehit ve iso-propanol moleküllerinin yüksek olduğu bulunmuştur (Wehinger vd., 2007).

3.4.2.3. SIFT/MS

Havadaki ve nefesteki çeşitli eser gazlarının miktarlarını aynı anda gerçek zamanlı olarak belirleyebilen yeni bir analitik yöntemdir. Kısaca analizler tepkime tüpündeki (veya akış tüpü) kimyasal iyonlaşma süreciyle meydana gelir. UOB'ları analiz etmek için numune tepkime tüpüne belirli bir oranda katılmalıdır. Tepkime tüpünün içinde öncü iyonlar, genellikle H_3O^+ , NO^+ veya O^+ 'dır (Diskin vd., 2003). İçindeki mevcut UOB'larla tepkimeye girerler. Bu tepkime ise uçucu organikleri tanımlamak ve kütlelerini belirlemek için kullanılan kuadrupol kütle ölçer cihazı ile analiz edilecek olan iyonların oluşumuyla sonuçlanır. Her organik bileşen ve organizma türü kendine özgü UOB profilini ürettiği için örnek toplandığı zaman SIFT/MS o örnekte hangi organik bileşenin veya organizma türünün var olduğunu belirleyebilir. Nefes buharındaki eser gazlarının saf konsantrasyonları ppb seviyelerinin altında SIFT/MS ile belirlenebilir. SIFT/MS alanında online ve gerçek zamanlı invazif olmayan nefes ölçümleri, iyileştirici görüntüleme ve fizyolojik çalışmalar yapılabildiğinden önem arz etmektedir (Smith ve Španěl, 2005)

Turner vd. (2006), SIFT/MS ile yaptıkları çalışmada, kanda bulunan metanol miktarı ile nefeste bulunan metanol miktarının uyumlu olduğu bulunmuştur.

3.4.2.4. Elektronik burun

Elektronik burun, kimyasal veya biyolojik sensör dizisi olan, n tane sensörden oluşmuş bir gruptur. Bir sensör dizisi farklı algılama özellikleri olan sensörlerden meydana gelmiştir. Koku uyarımları sensörler üzerine düşürüldüğünde her bir farklı koku için sensörler, parmak izi niteliğinde farklı tepki vermektedir. Elektronik burun bileşenleri elde edilen sensör tepkilerinin

dijitalleştirilmesi ve sinyallerin analiz edilmesi gibi kısımların birleşmesi ile oluşmuştur (Pearce vd., 2006). Elektronik burunda, yarıiletken temelli sensörler (MOSFET, IDT, MOS vb. yapıdaki), osilasyonlu kütle algılayıcı sensörler (QCM, SAW vb.), optik temelli sensörler, iyonizasyon temelli sensörler ve katalitik veya kolorimetrik temelli sensörler kimyasal sensör çeşitleri kullanılmaktadır (Arshak vd., 2004).

Astım hastalarının ve kontrol grubun nefesleri, bu tür bir sensör yardımıyla incelenmiştir (Dragonieri vd., 2007).

3.4.2.5. Kolorimetrik analizler

Bazı çalışmalar insan nefesindeki hidrojen siyanür (Lundquist vd., 1988) ve aseton (Teshima vd., 2005)) gibi belirli UOB'ları ölçmek için kolorimetrik metodlar kullanır. Algılama kimyası asetonun renkli ürün formunu almak üzere alkalın salisilaldehit ile tepkimeye girmesine dayanır. Bu ürün mavi bölgede emer ve GaN tabanlı LED'ler ile 45 nm merkezli yayılımla görüntülenebilir. Bu metod nefes aseton analizi için uygun hassaslıktadır. Ayrıca insan nefesindeki özgül bileşenleri belirlemede kullanılabilir. Ancak aynı anda birkaç bileşeni belirlemek için kullanılamaz.

Yapılan bir çalışmada, akciğer kanseri hastaları 12 dakika boyunca oda havası soluyarak kolorimetrik sensör dizilerine nefes vermelerini sağlayarak, sensör dizilerinin renk değişimlerinin numerik vektörlere dönüştürülmesi ile hastalık teşhisinde kullanılabileceğini göstermişlerdir (Mazzone vd., 2007).

3.4.2.6. EBC

Bu sistem nefes alınarak derecesinin 4⁰C ye veya sıfırın altına düşürülmesi ile yoğunlaştırılması prensibi ile çalışır. Soğutma için buz veya sıvı nitrojen kullanılır. Nefes alınma esnasında kişinin burnu kapatılarak, tidal volüm içerisinde 15 dk nefes alıp vermesi sağlanır. Genellikle 1.0–2.5 ml EBC toplanabilir.

Bu yöntemle oksidatif stres ve isoprostane (8-iso-prostaglandin) F2 α (PGF2 α), lökotriyenler, prostaglandinler, H₂O₂ ve 3-nitrotirosin gibi inflamatuvar mediatörler, dedekte edilebilir (Montuschi ve Barnes, 2002).



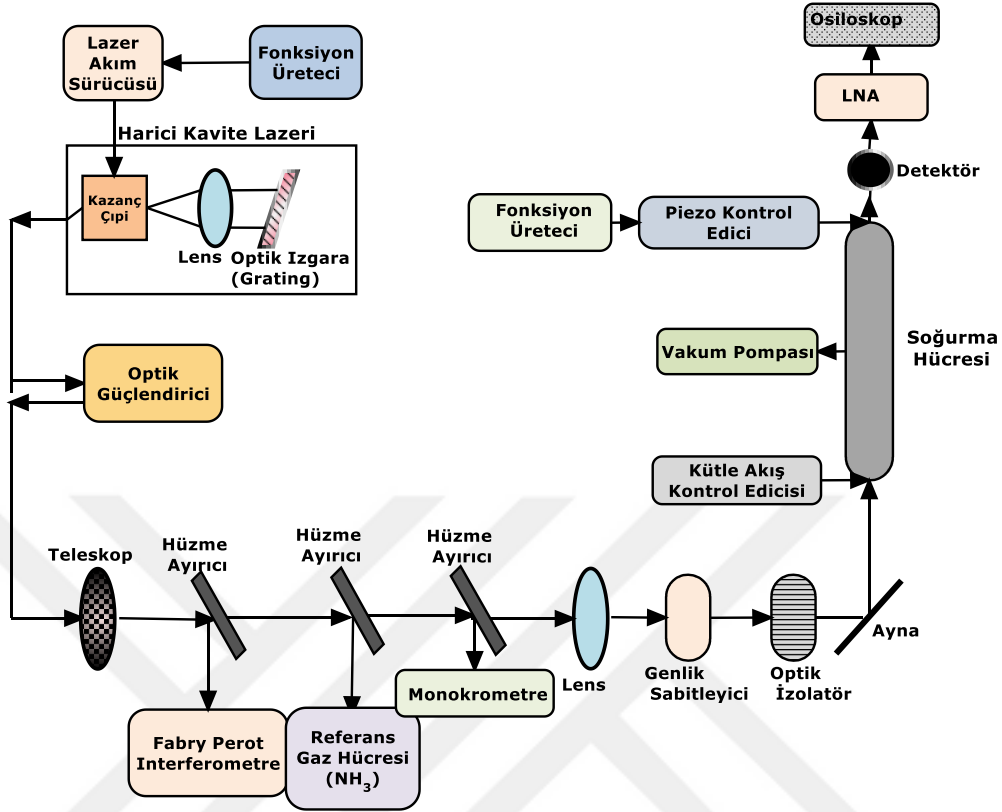
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında OA-CEAS sistemi kurulmuş, bu sistemle OUAS ve VPA kullanan epilepsi hastalarının nefesleri incelenmiştir. TD-GC/MS ile ayrıca OUAS hastalarının, epilepsi hastalarının, Parkinson, MS hastalarının nefesleri incelenmiştir. Sonuçların istatistiksel analizleri yapılarak çıkarımlar yapılmıştır.

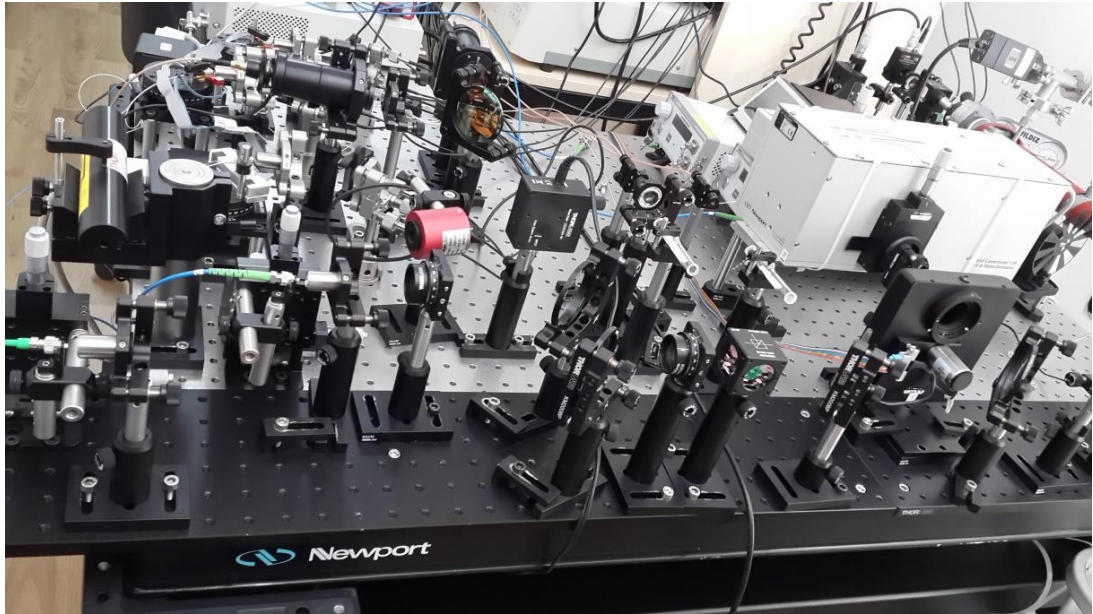
4.1. OA-CEAS Lazer Sisteminin Kurulması

Çalışmamızda (Bayraklı ve Akman, 2015) genlik stabilize edici kullanarak OA-CEAS ve ECL (External Cavity Laser) tabanlı bir nefes sensörü geliştirilmiştir (Şekil 4.1, 4.2). ECL tasarımı için öncelikle, dar hat genişliğine sahip, oldukça geniş (170 nm, 720 cm^{-1}) ayarlama aralıklı ve (1.85 cm^{-1}) dalga boylarında ayarlanabilir, tek modlu, yüksek çıktı gücüne sahip (100 mW), 6890 cm^{-1} (1451 nm) ve 6170 cm^{-1} (1621 nm) arasında ayarlanabilen sistem için termoelektrik soğutucu (TEC) kullanan bir lazer kazanç çipine sahip bir ECL geliştirilmiştir. Kullanılan lazer kazanç çipinde açılı bir dalga kılavuzu, yansıma engelleyici (AR) kaplama mevcuttur ve geniş bir lazer bant genişliğine sahiptir. Lazer kazanç çipi dış kavite kurulumu olmadan ışığa yapmamaktadır. Kurulan ECL'de tüm lazer spektrumu üzerinde sadece bir mod (tek modlu) bulunmaktadır. Dolayısıyla geliştirdiğimiz ECL geniş bantlı yüksek çözünürlüklü spektroskopi için oldukça uygundur. Nefesteki moleküllerin analizi amacıyla, ECL ile elde edilen ışık, 700-1650 nm spektral aralığında yüksek yansımaya sahip (>%99.96) iki tane aynadan oluşan optik kaviteye gönderilmiştir. Optik kavite kullanılarak ECL çizgi genişliğinin üst limiti ölçülmüş ve $\sim 140 \text{ kHz}$ olarak tespit edilmiştir. Sistemimiz nefes içinde ppbv aralığındaki konsantrasyonların 1450 ila 1620 nm spektral aralığında soğurma çizgilerine sahip olanları arasındaki her molekülü tespit edebilmektedir. Sensörün performansı ilk olarak amonyak ile değerlendirilmiştir. Osiloskoptan alınan 256 soğurma çizgisinin ortalaması için, amonyak molekülünün 6528.76 cm^{-1} 'deki soğurma çizgisi kullanılarak yaklaşık $1 \times 10^{-8} \text{ cm}^{-1}$ 'lik bir minimum algılanabilir soğurma katsayısı (α_{\min})

gösterilmiştir. Bu ise 1.4 km'lik bir soğurma yolu uzunluğu ve 2 sn'lik veri elde etme zamanıyla gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.1.OA-CEAS deney düzeneği şematik gösterim (Bayraklı ve Akman, 2015)



Şekil 4.2.OA-CEAS deney düzeneği

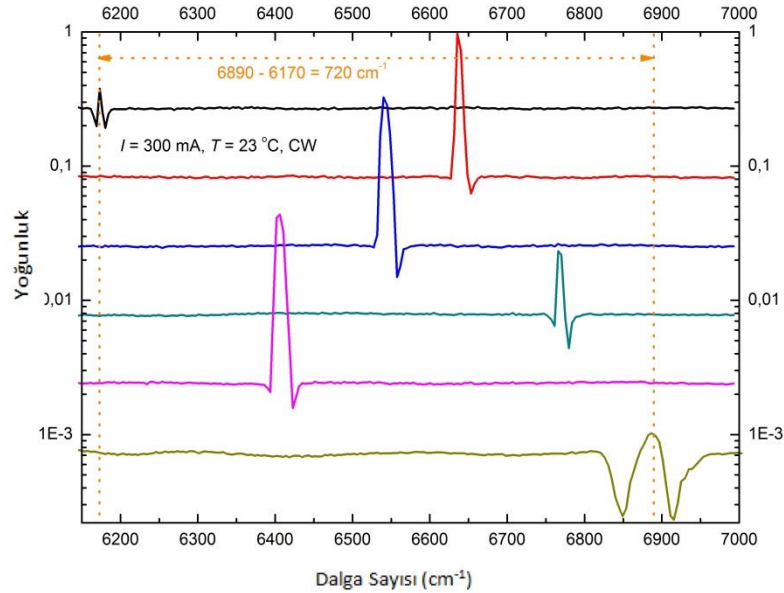
ECL konfigürasyonunda (Şekil 4.3) TEC soğutucu üzerindeki lazer kazanç çipi (Thorlabs, SAF1550S2) lazer ışığını yükseltmek için kullanılmıştır. Lazer kazanç çipine eklenmiş yüzey, açılı dalga kılavuzu (26.5 derece) ve AR kaplama nedeniyle %0.005 yansıtma katsayısına sahiptir. Bu özellik Fabry-Perot interferometre (FPI) çip modlarını baskılar ve kaviteler arasında ince ayar yapmayı engelleyecek etkileşimi minimum seviyeye indirir. Fiber çıkış üzerindeki optik yalıtkan çip geri yansımaları engelleyerek lazerin kararlılığını arttırmıştır. Lazer çipi manuel bir hassas çevirme basamağına (Thorlabs, PR01/M) oturtulmuş ve CW modunda bir lazer sürücü/TEC kontrolcüsü (Thorlabs, ITC4005) tarafından yönlendirilmektedir. Lazer çipinden gelen ışını hizalamak amacıyla, 8 mm odak uzaklıklı ve AR kaplamalı bir asferik mercek ile $NA = 0.5$ (Thorlabs, A240TM-C) kullanılmıştır. Mercek, pikomotor uyarıcılarına sahip bir XYZ basamağına oturtulmuştur (Newport, 9062-XYZ-PPP-M, 8763-KIT).

Daha sonra hizalanan ışın enine manyetik (TM-Transverse Magnetic) polarizasyonla optik kırınım ağı yüzeyine (Thorlabs, 1050 grooves/mm, 1550 nm) yüksek kırılma verimiyle aktarılmıştır. Optik kırınım ağı bant geçirici filtre olarak kullanılmış olup, çevirme basamağı (Newport, AG-PR100V6, AG-UC8) üstüne kurulmuştur. Çevirme basamağı sürekli 360 derece dönme kabiliyetine sahiptir ve minimum basamak hareketi 5 μ rad'dır (1 arcsec). Dıştan kavrayan yüzey ile optik kırınım ağı arasındaki mesafe yaklaşık 7 cm'dir. Kırılan ışının ilk sırası optik geri besleme sağlamış, seçilen mod lazer çipine geri döndükten sonra güçlendirilmiştir. Bir moddan diğerine geçiş optik kırınım ağı ile gelen ışının arasındaki açıyı değiştirmekle sağlanmıştır. Çıkış gücü optik bir yükseltici (Thorlabs, S9FC1004P) kullanılarak 100 mW'a çıkartılmıştır. Tüm bileşenler ağır bir paslanmaz çelik optik masa üzerine oturtulmuştur.



Şekil 4.3. Dış kavite diyot lazer (ECL) düzeneği

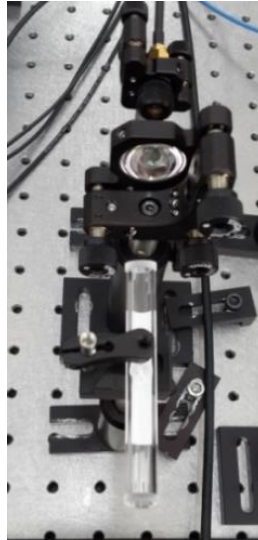
ECL ile elde edilen lazer ışığı fiber ile alınmıştır ve spektrumların belirlenmesi amacıyla monokrometreye (Newport Cornerstone 130 1/8 m, 200-5000 nm) yönlendirilmiştir. Şekil 4.4’de, ECL’nin farklı optik kırınım ağı açılarında ölçülen spektrumları gösterilmektedir. Tek modlu ECL yapılandırmasında 6890 (1451 nm) ve 6170 cm^{-1} (1621 nm) arasında değişen 720 cm^{-1} (170 nm) gibi oldukça geniş bir ayarlama aralığı, optik kırınım ağının açısı ayarlanarak elde edilmiştir. Ayarlama aralığı lazer kazanç çipinin yükseltme bant genişliğiyle sınırlıdır. Spektrumlar $T = 23^\circ\text{C}$ ’de 300 mA’lik enjeksiyon akımıyla alınmıştır. Maksimum yan mod baskılama oranı 20 dB’den büyüktür.



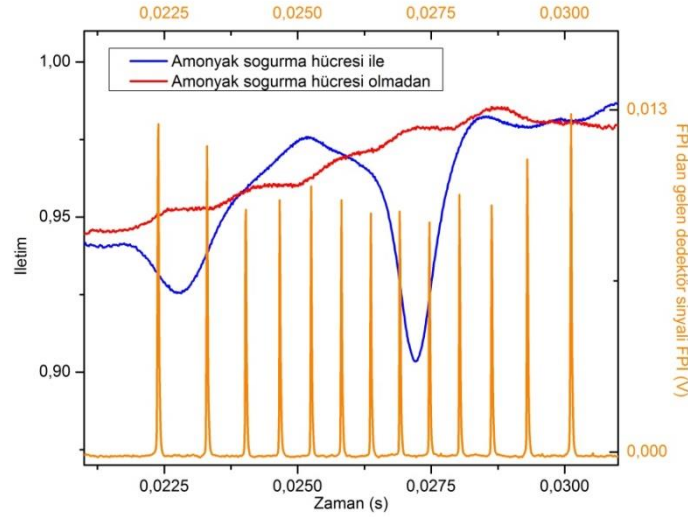
Şekil 4.4. 1451 ila 1621 nm arasında ayarlanan optik kırınım ağından tek modlu operasyonda gelen spektrum ölçümleri

Kurulan ECL'de mod kaydırma ayarlaması da optik kırınım ağı döndürmekle mümkündür. Lazer ayarlandığında, lazer kazanç çipi ile optik kırınım ağı arasındaki uzaklık değişmemektedir.

Dış kavite uzunluğu ile verilen akımın aynı anda değiştirilmesi ince ayar yapmayı mümkün kılmıştır. İnce ayar davranışını incelemek için elimizdeki monokrometrenin çözünürlüğü yeterli değildir. Bunun için yansız (taramasız) bir Fabry-Perot girişim ölçer (FPI) (Thorlabs, SA201-EC, SA200-12B, 0.05 cm^{-1} FSR), NH_3 dolu bir hücre, bir InGaAs sabit kazanç algılayıcı (Thorlabs, PDA10CF-EC) ve bir osiloskop (Tektronix, DPO3034) kullanılmıştır. Soğurma hücresi üzerinden geçen lazer ışığı dedektör yardımı ile alınmıştır (Şekil 4.5). Şekil 4.6'da, NH_3 hücresi tarafından aktarılan lazer gücü ve FPI'daki sıçramalar gösterilmektedir. Bu şekilde aynı zamanda soğurma hücreli ve hücreli olarak güç de gösterilmektedir. NH_3 'ün soğurma eğrileri açıkça görülebildiğinden, ince ayar yapmanın mümkün olduğu çıkarımında bulunulmuştur. Tek modlu operasyon (taramalı) bir FPI (Thorlabs, SA201-EC, SA200-12B, 0.05 cm^{-1} FSR) kullanılarak gösterilmiştir.

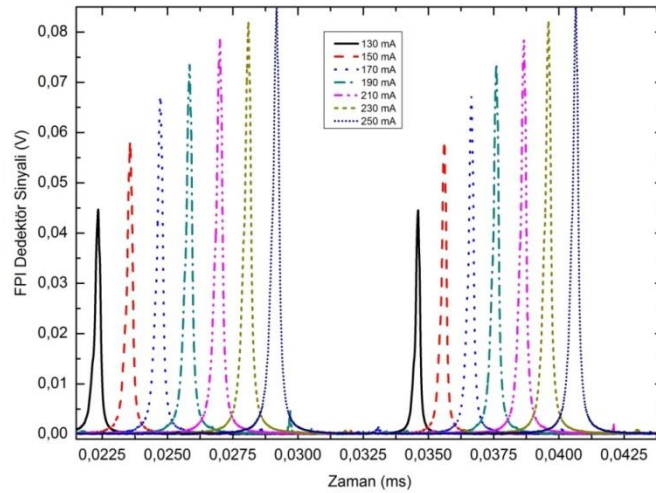


Şekil 4.5. Dedektöre soğurma hücresi üzerinden lazer gönderimi



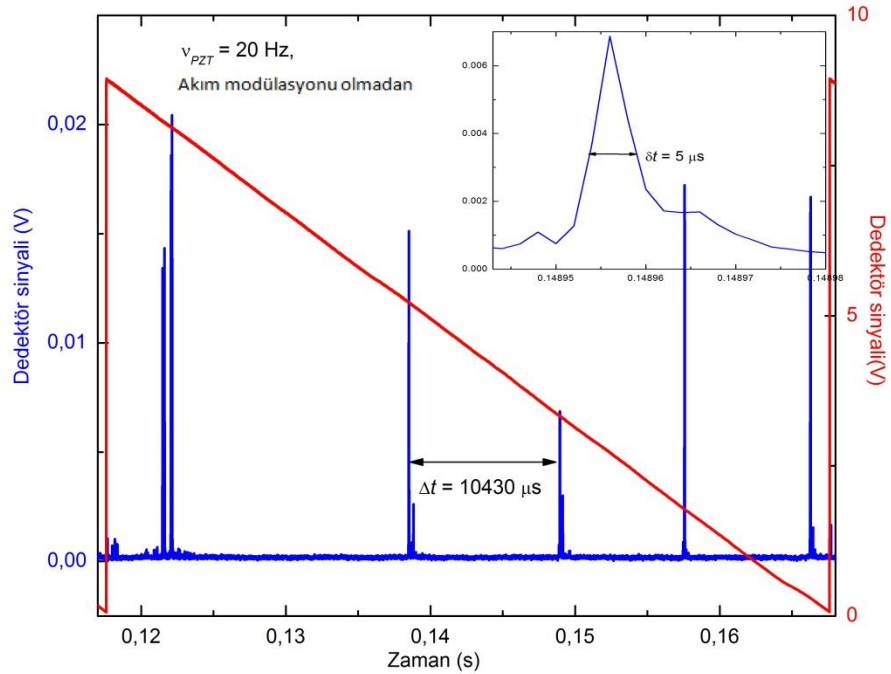
Şekil 4.6. Fabry perot interferometre (FPI) pikleri üzerinde NH_3 soğurma hücresi olmadan ve soğurma hücresi ile ışık gücü gösterimi

İki yüksek yansıtımlı ayna tarafından oluşturulan kavite, monokrometre ile karşılaştırıldığında spektral bant genişliği ölçümü için daha yüksek çözünürlük sağlayabilir. Şekil 4.7'deki sıçramaların genişliği lazer hat genişliğini hesaplayabilmemizi sağlamaktadır, bunun sebebi bu genişliğin hareket halindeki bir kavite modunun lazer hattı önünden geçme zamanını temsil etmesidir (Kosterev vd., 2001).



Şekil 4.7. Farklı giriş akımlarından tek modlu lazerin çalışması

$\Delta\nu_{\text{line}} / \text{FSR} = \Delta t_{(\text{Spike})} / \Delta t_{(\text{FSR})}$ dekleminde yola çıkarak, kullanılan ECL'nin spektral bant genişliği üst sınırı yaklaşık 140 kHz ($4.7 \times 10^{-6} \text{ cm}^{-1}$) olarak bulunmuştur. Kavitenin FSR değeri eksen üzerinde 300 MHz ($0,01 \text{ cm}^{-1}$), $\Delta t_{(\text{Spike})} \sim 5 \mu\text{s}$ ve $\Delta t_{(\text{FSR})} \sim 10430 \mu\text{s}$ olarak bulunmuştur. Şekil 4.8 'de görülen sıçramalar kaviye uzunluk modülasyonunun sadece bir periyodunda gözlemlenmiştir. Büyük sıçramalar TEM_{00} kavite moduna tekabül ederken, küçük sıçramalar daha yüksek dereceli enine modlardan kaynaklanmaktadır. TEM_{00} modlarının düzensiz aralıklanması ise piezoelektrik transdüser (PZT)'in lineer olmamasına bağlanmıştır. Bu ölçümler için hiçbir yükseltici kullanılmamıştır.

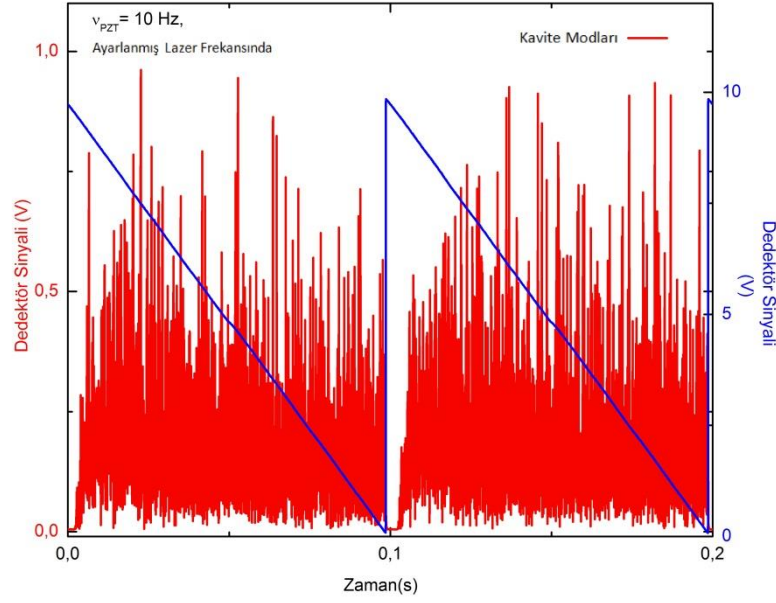


Şekil 4.8. Optik kavite ile spektral bant genişliği ölçümü. 20 Hz frekanslı bir kavite genişlik modülasyonu periyodu sırasında gözlenen sıçramalar

4.1.1. Eksendışı kavite destekli soğurma spektrometresi

Lazer ışını eksen dışı (OA-off-axis) hizalanmasındaki CEAS kavitesine 50 cm'lik bir mercek ve bir ayna ile yerleştirilmiştir. Kavite 50 cm aralıklı iki yüksek yansıtımlı aynadan oluşmaktadır. Bu aynalar (LayerTec GmbH) 2.54 cm enli, 1 m eğrilik çapında 700 ile 1650 nm spektral aralığında yüksek yansıma katsayısına sahiptir (>%99.96). Kavite modları bir fonksiyon jeneratörü

(Tektronix, AFG3021B) ve üç PZT (Thorlabs, PE4)'yi modüle eden bir üç kanallı piezo kontrolcüsü (Thorlabs, MDT693B) kullanılmak ve lazer frekansını sabit tutmak suretiyle 10 Hz'lik bir testere dişi dalgası yaratılarak kavite uzunluğunun ölçülmesiyle elde edilmiştir. Kaviteden çıkan ışın 150 MHz bant genişliğinde DC olarak bir InGaAs dedektörü (Thorlabs, PDA10CF-EC) üzerine odaklanmıştır. Sinyalin yükseltilmesi (kazanım faktörü: 10^3) ve düşük gürültülü yükseltgeç yardımıyla filtrelenmesinden (30 kHz alçak geçiren) (SRS, SR560) sonra, sinyal bir sayısallaştırıcı osiloskoba aktarılmıştır (Tektronix, DPO3034). Osiloskop çıktısı bilgisayara bir USB bağlantısıyla aktarılmış ve Tektronix analiz yazılımı ile kaydedilmiştir. OA hizalanması için kaviteden aktarılan yoğunluk, lazer frekansı şekliyle Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Göreli frekans kalibrasyonu lazer ışınının 1.5 GHz (0.05 cm^{-1}) serbest spektral aralıklı (FSR) bir FPI'dan geçirilmesiyle mümkün olmuştur. Aktarılan ışık bir mercekle bir InGaAs (fotodiyot) dedektör üstüne odaklanmıştır. Mutlak frekans kalibrasyonu NH_3 içeren bir referans gaz hücresi sayesinde gerçekleştirilmiştir. Gazı CEAS kavitesi içine yerleştirmek ve çıkartmak için bir kütle akım kontrolcüsü (Alicat, MCV-2SLPM-D/5M) ve bir vakum pompası (Agilent, IDP3) kullanılmıştır. Kavite içinde basınç bir vakum ölçer ile ölçülmüştür (Agilent, PCG-750).



Şekil 4.9. Sabit lazer frekansında OA-CEAS hücresi kavite modları üzerinden aktarılan yoğunluk

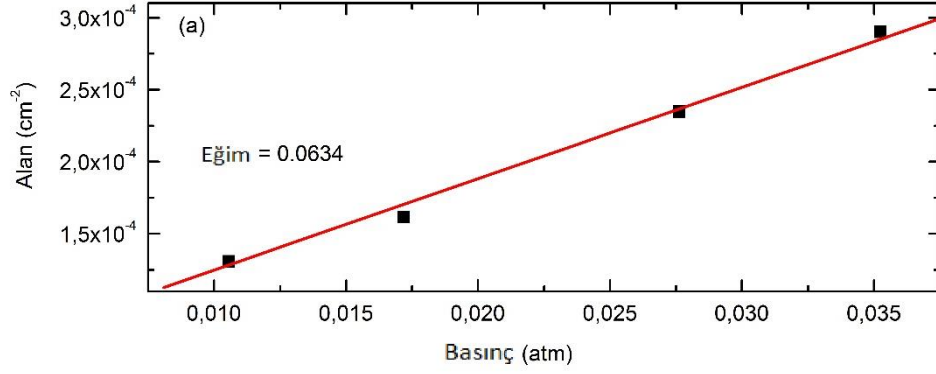
Kavite, eğer $G\alpha \ll 1$ şartı sağlanırsa lineer bir soğurma sinyal kazanımı vermektedir. Burada $G = R/(1 - R)$ kavite kazanım faktörüdür (Paul vd., 2001). Çizgi gücünün deneysel olarak belirlenmesi amacıyla, entegre CEAS sinyali $[(I_0/I)-1]/d$ basıncın bir fonksiyonu olarak çizilmiştir (Şekil 4.10). Veri noktaları üzerindeki eşleşme doğrusunun eğimi, 6528.76 cm^{-1} 'deki soğurma eğrisi için yaklaşık $2.5 \times 10^{-21} \text{ cm}^{-1}/\text{molekül cm}^{-2}$ değerini vermekte, bu ise Webber vd. (2001) tarafından raporlanan sonuçla uyum göstermektedir.

Soğurma katsayısını bulmak için, I_0 kaviteye giren ışık, I kaviteden çıkan ışık olarak, R ayna yansımaya katsayısı ve d kavite uzunluğu olarak alındığında, denklem aşağıdaki gibi yazılabilir;

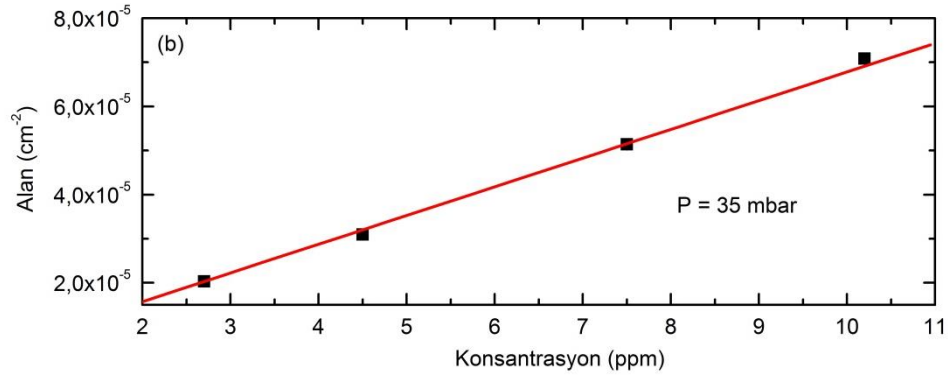
$$\alpha = \left(\frac{I_0}{I} - 1 \right) \left(\frac{1-R}{d} \right) \quad (4.1)$$

Kantitatif analiz için ayna yansıtıcılığını kalibre etmek amacıyla, entegre soğurma $[(I_0/I)-1]/d$ NH_3 konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak Denklem

4.1'e dayanarak çizilmiştir (Şekil 4.11). Bir aynanın yansıtıcılığı elde edilen doğrusal eşleşmenin eğimi kullanılarak hesaplanabilir. Bu ölçümlere göre, ayna yansıtıcılığı R, 0.99964 ± 0.00001 olarak belirlenmiştir. Bu ise 1.4 ± 0.001 km'lik etkin yol uzunluğuna (L_{eff}) işaret etmektedir.



Şekil 4.10. CEAS sinyali basıncın bir fonksiyonu olarak çizimi.

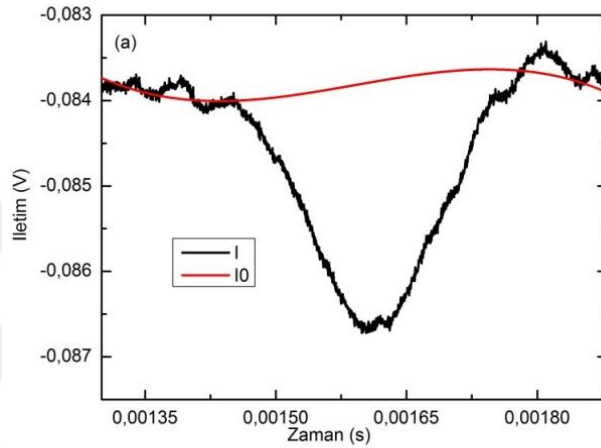


Şekil 4.11. Entegre CEAS sinyalinin NH_3 konsantrasyon fonksiyonu olarak çizimi

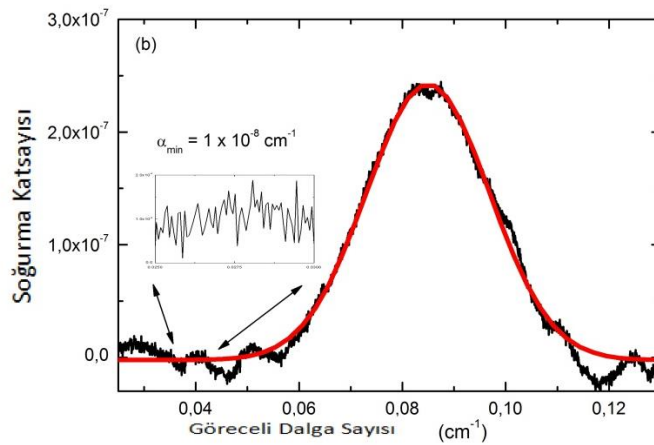
(Veri noktaları üzerindeki eşleşme doğrusunun eğimi R= 0.99964 ± 0.00001 değerini vermektedir.)

Şekil 4.12'de, N_2 içinde 2.7 ppm NH_3 içeren CEAS hücresinden geçen aktarım sinyali görülmektedir. 2.7 ppm konsantrasyon, 96 ppm NH_3 içeren onaylı bir karışımın N_2 ile hücre içinde 2.86 mbar basınca kadar ayarlanarak ve daha sonra N_2 gazı eklenerek toplam basıncın 1000 mbar'a çıkartılması suretiyle elde

edilir. Hücrenin basıncı 35 mbar'a düşürüldükten sonra, dış kavite optik kırınım ağı açısını yöneten piezoyu modüle eden bir piezo kontrolcüsü (Thorlabs, MDT693B) kullanmak ve bir osiloskop (Tektronix, DPO3034) ile tipik olarak 256 tarama ortalaması yakalamak suretiyle 120 Hz'lik bir sinüs dalgası ile lazer frekansı ölçülmüş ve spektrumlar elde edilmiştir. Kavite rezonans sıçramalarını düzgünleştirmek için birçok lazer frekans taramasının ortalamaları alınmıştır. Şekil 4.13, Denklem 4.1'e göre hesaplanan soğurma katsayısı ile deneysel veri noktaları üzerindeki Voigt eşleşmeleri gösterilmiştir.



Şekil 4.12. N₂ içinde 2.7 ppm NH₃ içeren CEAS hücreinden geçen aktarım sinyali



Şekil 4.13. Soğurma katsayısı.

Burada I_0 giriş sinyali, I kaydedilmiş CEAS sinyali, R kavite aynalarının yansıtıcılığı, d ise kavite aynaları arasındaki mesafeyi belirtmektedir.

Amonyak tespiti için soğurma çizgisi 6528.76 cm^{-1} alınarak 256 ortalama için yaklaşık $1 \times 10^{-8} \text{ cm}^{-1}$ değerinde bir algılanabilir soğurma katsayısı (α_{\min}) bulunmuştur. Bu ise 1.4 km soğurma yol uzunluğu ve 2 s veri elde etme süresi ile başarılmıştır. Gürültü eşdeğer soğurma hassasiyeti (NEAS-Noise equivalent absorption sensitivity) minimum algılanabilir soğurma katsayısı ve algılama bant genişliği ile hesaplanmaktadır. Algılama bant genişliği kavite bant genişliğinin $[f_{\text{kavite}} = 1/2\pi\tau]$ ortalaması alınan taramalar bölünmesi ile elde edilen sayıdır. Yaklaşık 135.2 Hz'lik bir algılama bant genişliği bulunmuştur ($\tau \sim 4.6 \mu\text{s}$, $f_{\text{kavite}} \sim 34.6 \text{ kHz}$, 256-ortalama tarama).

Kurulum sonucunda yaklaşık $8.6 \times 10^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$ değerinde bir NEAS elde edilmiştir.

Görelî yoğunluk oynamalarından kaynaklanan kavite mod gürültüleri OA hizalaması kullanılarak azaltılabilir. OA-CEAS için, lazer hat genişliğinden kayda değer miktarda küçük etkin FSR'a ulaşmak hedeftir. Böyle bir durumda, rezonant kavite özelliklerinden kurtulunabilir ve kavite çıktısı lazer frekansına endekli olmaz, böylece lazer moddan moda geçerken yaşanan aktarım değişimlerinden kaynaklı gürültü azaltılış olur. Yine de, dar bir lazer bant genişliği FSR'i yeteri kadar daraltmayı zorlaştırmaktadır. Bunun yerine kavite aynalarından biri titreştirilebilir ve/veya lazer frekansı kavite modları üzerinden taranabilir. Dolayısıyla optik kavitenin aynalarından biri üç PZT (Thorlabs, PE4) titretilmiş, bu ise daha iyi bir mod ortalaması ve dolayısıyla daha iyi bir SNR ile sonuçlanmıştır. Optik kavite önüne yerleştirilmiş bir genlik stabilize edici (Thorlabs, LCC3113H/M), SNR'yi, dolayısıyla algılama limitini daha da geliştirmek için kullanılmıştır. Optik Kaviteden geri yansımayı engellemek için bir 43-dB optik yalıtkan (Thorlabs, IOT-4-1550-VLP) kullanılmıştır. Geliştirdiğimiz sistemin ultra-hassas gerçek zamanlı insan nefesi ölçümleri için uygunluğunu göstermek için, verilen nefes içerisindeki amonyak incelenmiştir. 6528.76 cm^{-1} 'deki NH_3 soğurma çizgisi izole bir çizgidir ve nefes

analizi için uygundur. Hücrede kalan amonyak moleküllerini boşaltmak ve sistemi bir sonraki örnek için hazırlama amacıyla nefes analizinde aşağıdaki işlemler yapılmıştır:

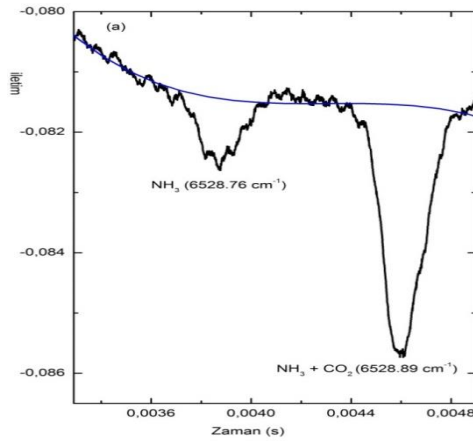
- Ölçüm yapılmadan önce bir vakum pompası yardımıyla (Agilent, IDP-3) hücre boşaltılarak basıncı gerçekleştirilebilir bir minimum değere (yaklaşık 7×10^{-2} mbar) indirilmiştir.
- Hücre, 1000 mbar toplam basınca ulaşana kadar saf N₂ ile doldurulduktan sonra, tekrar boşaltılmıştır. Bu işlem kayda değer bir sinyal gözlemlenmeyene kadar tekrarlanmıştır (yaklaşık olarak 3-4 defa).
- Hücre, ayna yüzeylerinde ve hücre duvarlarında kalmış olabilecek amonyak molekülünün tahliyesi için 35 ila 40°C sıcaklığa ısıtılmıştır.
- Ölçüm 35 mbarlık düşürülmüş basınç altında yapılmıştır.

Alveolar hava örneği bir ağızlık, tek taraflı vana, t-bağlantısı, toplama torbası ve atık torbası (Quintron) kullanarak toplanmıştır (Şekil 4.14). Alveolar havadan ölü hacmin ayrılması tek kullanımlık polietilen ihraç torbası ile yapılmıştır. Verilen ölü boşluk barındıran nefes, önce ihraç torbasına yönlendirilmiş, daha sonra alveolar hava toplama torbasına yönlendirilmiştir. 2 ayrı haznesi olan nefes torbasında ilk olarak ölü boşluk torbası dolmakta 150 ml lik kısmın dolması ile ölü boşluk torba iç basıncının yüksek olması sebebi ile kalan hava diğer nefes torbasına vana ile aktarılması ile sağlanmaktadır.



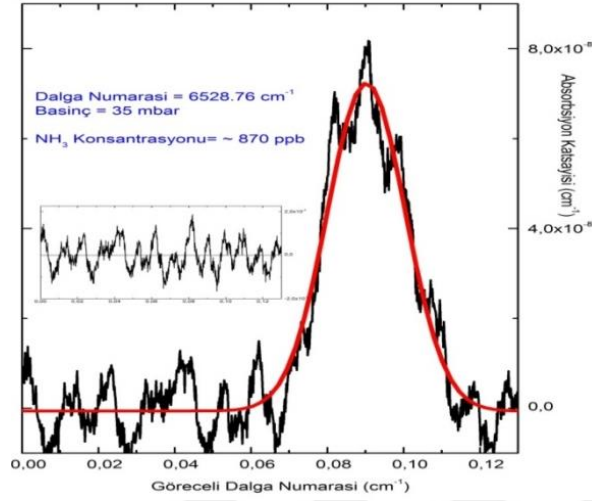
Şekil 4.14. OA-CEAS Lazer Spektroskopi için nefes toplama torbası (a) Analiz edilen havanın toplandığı kısım, (b) Atık torbası, ölü boşluk havasının toplandığı kısım

Toplama torbasında toplanan alveolar hava örneğini hücreye aktarmak için iki yönlü hava geçirmez vana (Hans Rudolph Inc.) ve verilen nefese göre kalibre edilmiş bir kütle akım kontrolcüsü (Alicat, MCV-2SLPM-D/5M) kullanılmıştır. Alveolar hava ile dolu CEAS hücresinden geçen aktarım sinyali Şekil 4.15 'de gösterilmektedir. Bu şekil üzerinde, NH_3 'ün 6528.76 cm^{-1} 'de ve NH_3 ile CO_2 'nin 6528.89 cm^{-1} 'deki izole soğurma çizgileri gözlemlenebilir. Şekil 4.16'da, NH_3 'ün 6528.76 cm^{-1} 'deki soğurma katsayısı gösterilmiştir. Bizim örneğimizde nefes havası içinde amonyak 870 ppb konsantrasyonunda bulunmuştur.



Şekil 4.15. Nefes havası ile dolu CEAS'tan geçen aktarım sinyali

NH₃'ün 6528.76 cm⁻¹'deki ve NH₃ ile CO₂'nin 6528.89 cm⁻¹'teki yalıtılmış soğurma eğrileri gösterilmektedir.



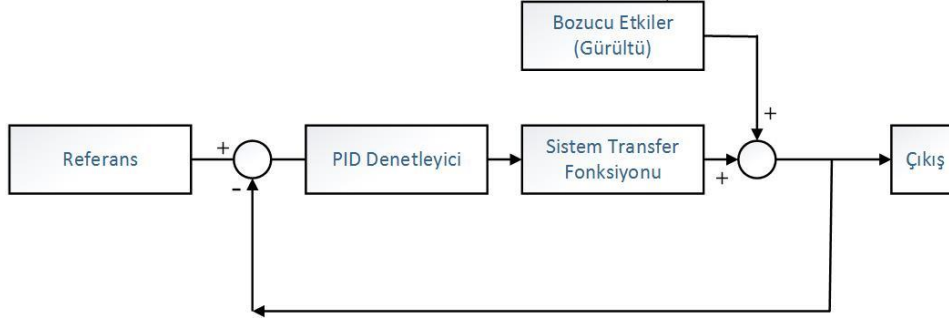
Şekil 4.16. NH₃'ün 6528.76 cm⁻¹ 'deki soğurma katsayısı.

Yukarıda verilen örnek çalışmada nefes havasındaki amonyak molekülü incelenmiş ve 870 ppb konsantrasyonunda bulunmuştur.

4.2. Lazer Frekans Kararlılığının Sağlanması İçin PID İle Simulasyonu

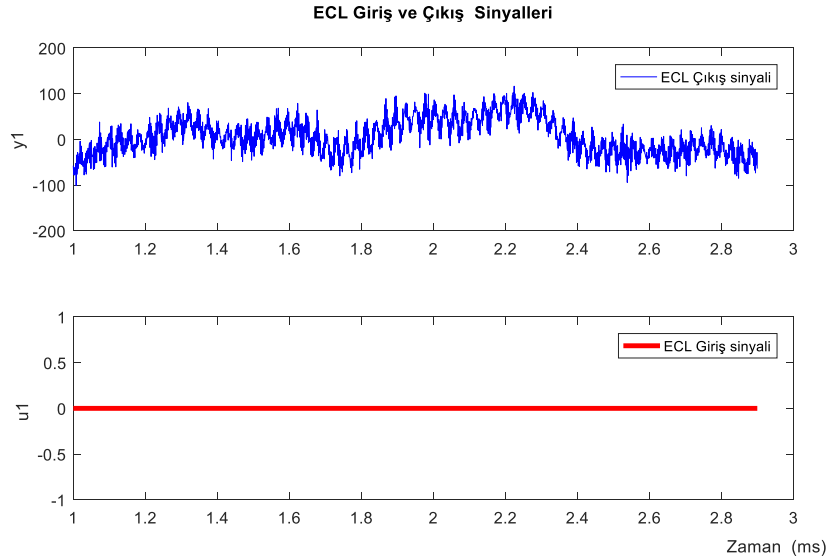
Lazer spektroskopi sistemlerinde moleküllerin soğrulduğu belirli frekanslar vardır. Araştırılan molekülün ışığı soğurduğu frekanslarda kayma olduğu zaman analizlerde zaman kaybı artmakta ve hassaslık azalmaktadır. Frekans kontrol ettiğimiz mekanizmalar PID denetleyiciler ile geri beslemeli olarak kullanıldığında, gürültüden ve ortam etkisinden kaynaklı frekans sapmalarının önüne geçilebilmektedir.

PID denetleyiciler genellikle geri beslemeli sistemler olarak planlanırlar. PID denetleyici, istenilen referans bilgisi ile değişen giriş bilgisi arasındaki farkı bularak, hata değerini belirli bir süreç içinde hesaplar. Bu sistemlerin en büyük avantajı kontrol sistemlerindeki bozucu etkilere rağmen, denetleyici sistem çıkışını referans değerine yaklaştırabilmesidir. Temel bir kontrol sistemi Şekil 4.17'de verilmiştir.



Şekil 4.17. Kapalı çevrim kontrol sistemi

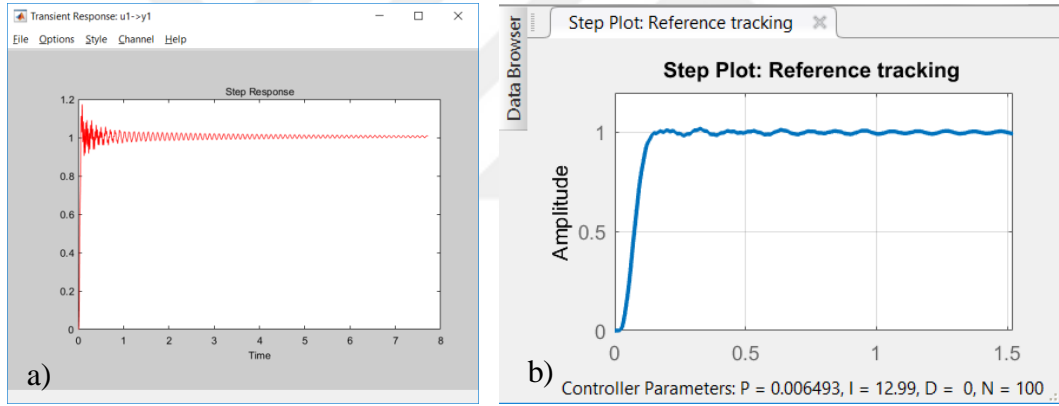
Çalışmamızda simülasyonun gerçekleştirilmesi için ECL sistemi transfer fonksiyonu, kurulan OA-CEAS sisteminde yer alan ECL giriş ve çıkış dataları MATLAB System Identification uygulaması ile bulunmuştur. ECL'ye verilen doğru akım (frekansı sıfır) ile çıkış sinyali Şekil 4.18'de verilmiştir. Deney düzeneğinden alınan veriler zaman-frekans ekseninde alınmıştır. Giriş çıkış verilerine göre systemIdentification toolbox ile elde edilen transfer fonksiyonu Denklem 4.1'de gösterilmiştir. Kurulan deney düzeneğinde yer alan ECL çıkış sinyalinin frekans kayması ~ 200 kHz olarak ölçülmüştür. Deney düzeneğinden alınan veriler simülasyonda kullanılmıştır.



Şekil 4.18. ECL deney düzeneği çıkışından (y_1) ve ECL deney düzeneği girişinden (u_1) alınan veriler (zaman-frekans eksenleri üzerinde)

$$\frac{8.5x10^{14}s^4+3.8x10^{15}s^3+4.6x10^{18}s^2+1.2x10^{19}s+5.17x10^{21}}{s^{11}+181.2s^{10}+1.36x10^5s^9+2x10^7s^8+\dots+5.7x10^{13}s^5+3.8x10^{15}s^4+1.9x10^{17}s^3+7.9x10^{18}s^2+1.8x10^{20}s+1.8x10^{20}s+5.15x10^{15}s^{21}} \quad (4.1)$$

Transfer fonksiyonu step fonksiyonu cevabı ve PID ile step fonksiyonun ayarlanmasının cevabı gösterilmiştir (Şekil 4.19a). ECL sisteminin transfer fonksiyonun bulunması ile sistemi kararlı hale getirecek PID konfigürasyonu MATLAB Pidtool ile gerçekleştirilmiştir. (Şekil 4.19b). MATLAB Pidtool doğrusal olmayan sistemleri çözememektedir. ECL ile elde edilen lazer gürültüden etkilenmekte ve zamanla değişebilmektedir, bu nedenle ECL den aldığımız dataların doğrusal olmadığı görülmektedir. Yalnız tasarlanan sistem doğrusal kabul edilerek gerçekleştirilmiştir. Doğrusal olmayan sistemlerin transfer fonksiyonları MATLAB pidtool ile çözümlenememekte ve kararlaştırılamamaktadır.



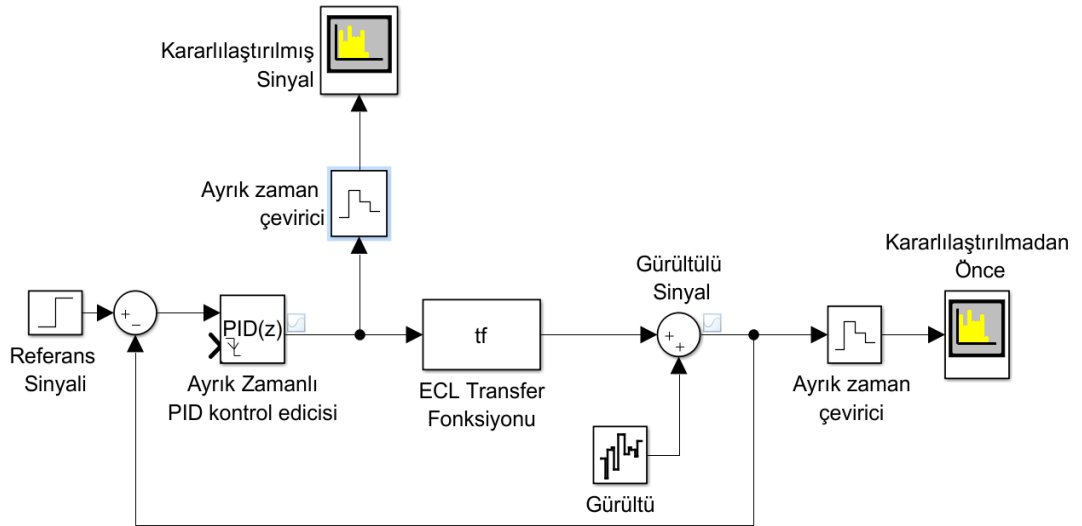
Şekil 4.19. a) Lazer ECL sisteminin transfer fonksiyonun step fonksiyonu cevabı
b) PID ayarlama ile step fonksiyonu cevabı

Elde edilen PID parametreleri Çizelge 4.1.'de gösterildiği üzere bulunmuştur.

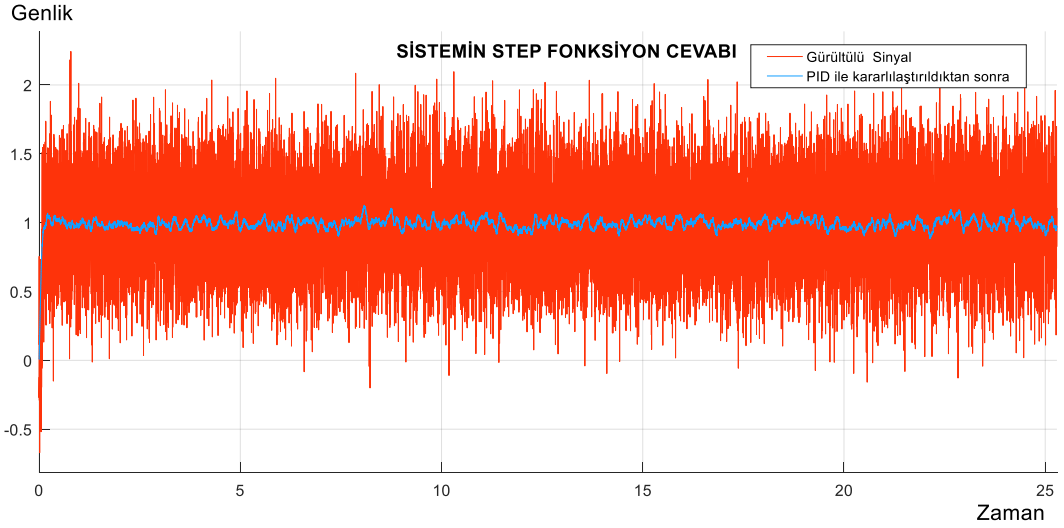
Çizelge 4.1. Elde edilen PID parametreleri

Kontrol Parametreleri	
P	0.0065
I	13
D	0
Filtre katsayısı	100

Elde edilen verilere göre MATLAB-Simulink ile tasarlanan sistem Şekil 4.20' de verilmiştir. Gerçeklenen kontrol sisteminde sistemin referans sinyali olarak girilen step fonksiyonunu takip ettiği ve gürültüyü söndürdüğü görülmektedir (Şekil 4.21)

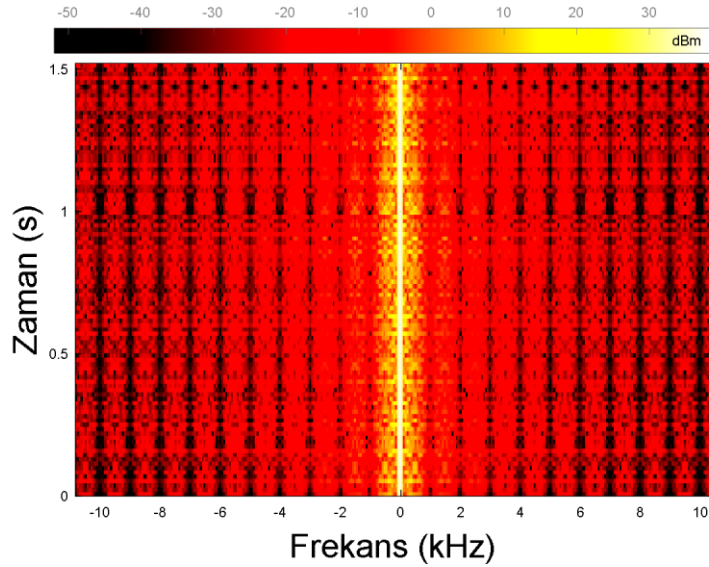


Şekil 4.20. Lazer kararlılığı için sistem simülasyon düzeneği

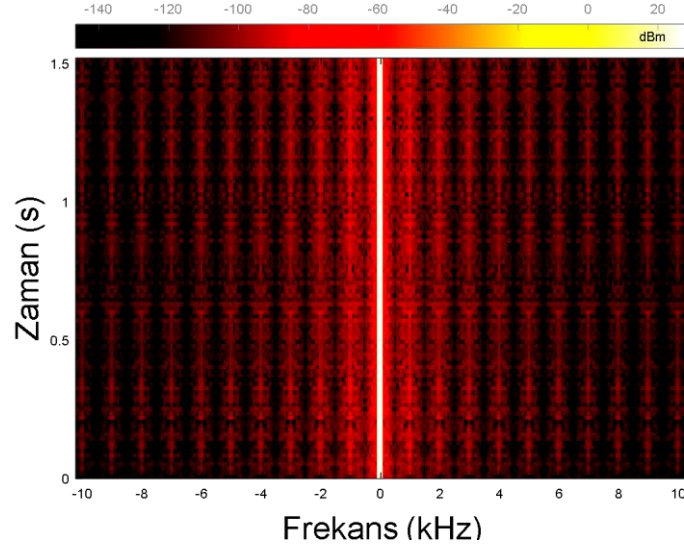


Şekil 4.21. Lazer sinyalinin, kararlaştırılmadan önce ve PID ile kararlaştırıldıktan sonra çıkışı

Sistemin frekans zaman ekseninde spektrogram ile çıktısı alındığında sistemin kararlaştırılmadan önce zamana bağlı frekans grafiğinde gürültü band genişliğinin, kararlaştırıldıktan sonraya göre fazla olduğu görülmektedir (Şekil 4.22, 4.23)



Şekil 4.22. Lazer sinyalinin, kararlaştırılmadan önce



Şekil 4.23. PID ile kararlılaştırıldıktan sonra

4.3. OUAS Hastalarında Nefes Analizi

Obstrüktif uyku apnesi (OUAS) üst solunum yollarının daralmasına bağlı olarak uyku sırasında solunumun azalması ya da periyodik olarak durmasıyla karakterize edilir. Obstrüktif uyku apnesi (OUAS) giderek daha fazla tıbbi morbidite ve mortalitenin önemli bir nedeni olarak kabul edilmektedir (Punjabi, 2008). Çeşitli coğrafi bölgelerde ve bir dizi etnik gruplar içerisinde, erkekler için OUAS prevalansı, %3,1'den 7.5'a kadar ve kadınlar için %1.2'den 3.2'ye kadar sıralanmaktadır (W. Lee vd., 2008). Bu durum, OUAS'ın tedavisi ve teşhis edilmesi için ekonomik yük bağlamında sürekli bir artışla sonuçlanmıştır. OUAS'ı teşhis etmek için kullanılan ve mevcut altın standart olarak görülen polisomnografi (PSG), pahalı, teknik olarak zor ve zaman alan bir sistemdir. OUAS'ın geçmişi ve katkıda bulunan faktörler halen tam olarak netleşmemiştir. OUAS, kardiyovasküler bozukluklar için artan bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Peker vd., 2002; Hung vd., 1990). Bu nedenle, OUAS dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olarak görülmektedir.

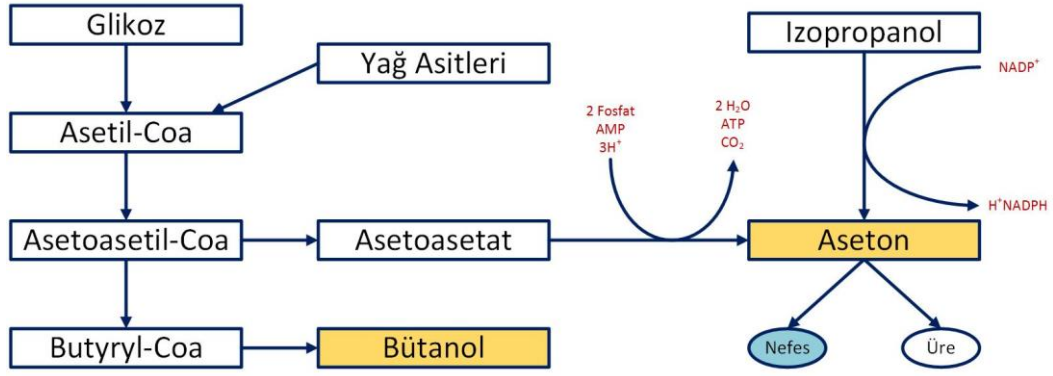
OUAS, havayolu, sistemik inflamasyon (Boyd vd., 2004) ve oksidatif stres (Carpagnano vd., 2010) ile ilgili işlemler ile ilişkilidir ve nefesle dışarı verilen UOB'lerin doğası ya da seviyelerini etkileyebilmektedir.

OUAS tanısı için alternatif noninvazif tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır. Noninvazif olması nedeniyle, nefes analiz metodu, solunum yolu ve/veya sistemik inflamasyonu araştırmak, OUAS'lı hastaları değerlendirmek ve seri olarak izlemek için uygun olabilir. Bu nedenle, dışarı verilen nefes moleküllerinin ölçümleri üzerinden noninvazif nefes analizi ile OUAS tanısına artan bir ilgi olmuştur fakat bugüne kadar OUAS odaklı sadece birkaç çalışma yapılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, solunumdaki karbondioksit, aseton ve / veya bütanol molekül seviyelerini analiz ederek OUAS'ın kolay ve noninvazif tanısı için yeni bir yöntem araştırmaktır. Bu nedenle, bu nefes moleküllerinin konsantrasyonlarındaki gecelik değişiklikler PSG'ye maruz bırakılan ve OUAS tanısı konulan 10 hastanın uykusundan önce ve sonra ölçümlenmiş, 10 sağlıklı kişide uykudan sonra belirlenenen biyoişaretlerin seviyeleri ile karşılaştırılmıştır. Nefesle dışarı verilen aseton ve bütanol molekül miktarları, TD-GC/MS ile belirlenirken, OA-CEAS nefesle dışarı verilen karbon dioksit konsantrasyonlarının ölçülmesi için kullanılmıştır.

Bildiğimiz kadarıyla, henüz başka hiçbir çalışma, OUAS'lı hastaların nefesindeki karbondioksit, aseton ve bütanol molekül miktarlarını izlenmesini dikkate almamıştır.

Aseton, asetoasetat ve 3- β -hidroksibütirat ile beraber üç keton cisiminden biri olan bir organik bileşiktir. Bu cisimler karaciğerde üretilirler. Aseton iki şekilde üretilir: asetoasetat dekarboksilasyonu yoluyla ve izopropanol dehidrasyonu yoluyla (şekil 4.24).



Şekil 4.24. Aseton-Bütanol metabolizması (Jones ve Woods 1986)

Aseton, asetoasetatın spontan dekarboksilasyonu ile üretilmektedir (Prabhakar vd., 2014). Aseton tekrar asetyl-CoA (W. Li vd., 2015) haline döndürülemez ve bu nedenle ürün ve nefesle birlikte atılır. Literatürde aseton kaynakları ve yolları detaylı olarak özetlenmiştir (Z. Wang ve Wang 2013).

Tip 1 diyabetli kişilerde aseton konsantrasyonu 0.80–3.97 ppm aralığında iken (C. Wang ve Surampudi, 2008), sağlıklı insanlara ait ortalama solunum aseton konsantrasyonu genellikle 0.39 ile 1.09 ppm arasında değişmektedir (Z. Wang ve Wang 2013). Diyabetik kişiler için, yükseltilmiş aseton seviyeleri ayrıca rapor edilmiştir (Storer vd., 2011; C. Wang vd., 2010). Birçok çalışma OUAS hastalarının Tip 2 diyabete yatkınlığını göstermektedir (Alves vd., 2011; Reichmuth vd., 2005; Tasali vd., 2008; Botros vd., 2009; Williams vd., 2007). Ayrıca, OUAS insülin direnci ve Tip 2 şeker hastalığı gelişimi ile ilişkilidir (Peled vd., 2007; Tamura vd., 2008).

Yapılan bir çalışmada (Bayraklı vd., 2016a), alkol alımından sonra bireylerde nefes havasında bulunan aseton konsantrasyonları ölçülmüştür. Ölçüm sonuçlarına göre çıkan maksimum değer 800 µg/L (346.32 ppm) olmak üzere, ortalama değeri 233µg/L (100.90 ppm) olarak bulunmuştur (Laakso vd., 2007). Kan içerisindeki aseton miktarı 200-300 mg/L ulaşınca toksik hale gelmektedir, aynı miktar nefes havasında 600–900 µg/L (260-390 ppm)'ye tekabül etmektedir (kanda aseton:nefes havasında aseton 330'luk orana sahiptir) (Laakso vd., 2007; Winek vd., 2001). Asetonun öldürücü seviyesi nefeste 1667

$\mu\text{g} / \text{L}'\text{e}$ ve buna tekabül eden kandaki miktarı $550 \text{ mg} / \text{L}'\text{dir}$ (Winek vd., 2001). Amann vd. (2004), uyku sırasındaki nefes moleküllerini incelemiş ve aseton konsantrasyonunun uyku döngüsünün ikinci yarısında arttığını göstermişlerdir. Ayrıca, King vd. (2012), sağlıklı insanların nefesini incelemiş ve bütün durumlarda gece boyunca nefes havasında bulunan aseton konsantrasyonlarının arttığını bulmuşlardır

Nefes havasında bulunan UOB seviyelerindeki nefes tutma ve ekspiratuar akım hızının etkisinin bu çalışmada araştırılmadığı da ayrıca not edilmelidir. Fakat Bikov vd., (2013), aseton seviyelerinin ekspiratuar akımdan (1.40 ± 0.14 vs 1.49 ± 0.14 ppm, 5 vs 10 L/min, sırasıyla, $p = 0.14$), etkilenmediğini fakat temel hat seviyeleriyle (1.38 ± 0.15 ppm) kıyasla nefes tutumunu (1.50 ± 0.18 ppm) takiben artırıldığını göstermiştir.

Bütanol, glukoz gibi karbonhidratların mikrobik fermentasyonundan üretilebilir, örneğin klostridyum asetobutylicum (Jones ve Woods 1986). Bu süreç, çeşitli uygulamalar için karbonhidratlardan aseton-bütanol fermantasyonu yoluyla aseton ve bütanol üretmek için metabolize olmuşlardır. Asetoasetil-CoA'dan üretilen butyryl-CoA, bu süreç içerisinde bütanol'e dönüştürülür. Yakın tarihli bir raporda, Nizam vd. (2014), OUAS örneklerinden, özellikle ağır OUAS'lı olan hastalardan gelen plaklardaki mikrop bileşimi içinde, sağlıklı örnekler ile karşılaştırıldığında önemli bir farklılık olduğunu göstermişlerdir. OUAS'ın plaktaki test bakterilerini değiştirmiş olabileceği sonucuna varmışlardır. Bütanol, insan nefes numunelerinde saptanmıştır (Libardoni vd., 2006). Filipiak vd. (2012), GC-MS vasıtasıyla streptococcus pneumoniae ve haemophilus influenza kültürleri yoluyla bırakılan UOB'leri analiz etmiş ve her iki bakteri kültüründe hafif yüksek konsantrasyonlarda bütanol bulmuşlardır. Kushch vd. (2008), sigara içenlerin nefesi ile içmeyenlerin nefesini karşılaştırmış ve bütanolün sigara içenler için önemli bir biyoişaret olmadığını bulmuştur. Fakat bütanol, kontrol altındaki bireylerle kıyaslandığında, akciğer kanserli hastaların nefesinde önemli ölçüde daha yüksek bir konsantrasyonda saptanmıştır. Bütanol akciğer hastalarında $2.21 \text{ ng} / \text{L}$ (0.75 ppb) ile $30.31 \text{ ng} / \text{L}$ (10.3 ppb) arasında değişen oranda $6.36 \text{ ng} / \text{L}$

(2.16 ppb)'lik bir ortalama ile görülürken, sağlıklı olan kontrol grubunda 0.32 ng/L (0.11 ppb) ile 13.97 ng/L (4.75 ppb) arasında değişen oranda 2.18 ng/L (0.74 ppb) 'lik bir ortalamaya sahip olduğunu saptanmıştır (Song vd., 2010).

Bütanolün nasıl oluştuğu ve hücresel sisteme etkileri konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bazı çalışmalar, anti-enflamatuar maddeler olarak aseton ve bütanolün etkilerini adreslemiştir (Huh vd., 2012; Gupta vd., 2014).

Bütanol bir organizmada normal kimyasal reaksiyonların bir ürünü olmasına karşın bu kimyasalın yüksekliği, OUAS hastalarında iltihaplanmaya karşı koruyucu bir mekanizma olarak kabul edilebilir.

4.3.1. Metotlar

On sağlıklı gönüllü ve 10 OUAS hastası, Süleyman Demirel Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde iş arkadaşları ve hastalar arasından alınmıştır. Her hastaya, standart teknikler kullanılarak gece boyunca PSG uygulanmıştır. 10 OUAS hastasının/gönüllülerin cinsiyet, yaş, vücut kitle indeksi, apne hipopne indeksi (AHI) ve oksijen desatürasyonu seviyelerini içeren biyometrik veriler Çizelge 4.2' de derlenmiştir.

Deneklerin gece boyunca hiçbir şey yememeleri istenmiştir. Kanseri, diyabet ve gebelik deney dışında tutulma kriteri olarak belirlenmiştir. Sigara içenler ve alkol tüketen denekler çalışmada yer almamışlardır. Karbon dioksit seviyesi, ECL-tabanlı OA-CEAS kullanılarak ölçülürken, nefesle dışarı verilen aseton ve bütanol konsantrasyonları TD-GC/MS kullanılarak belirlenmiştir. Çalışma, hastanenin etik kurulu tarafından onaylanmış ve tüm gönüllülerden yazılı hasta onamı alınmıştır.

Çizelge 4.2. Çalışmaya katılan 10 OUAS'lı Hastanın demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri (BMI, Vücut kitle indeksi; AHI, apne hipopne indeksi; ODI, oksijen doygunluğu seviyesi.)

OUAS'lı Hastalar	
Cinsiyet(erkek/kadın)	6/4
Yaş(Yıl)	Ortalama: 52. 41 ile 65 arasında değişen, Standart sapma (SD): 7
BMI (kg/m ²)	Ortalama: 30, 19 ile 35 arasında değişen, SD: 5
AHI	Ortalama: 46, 6.7 ile 78.5 arasında değişen, SD: 30
ODI	Ortalama: 44, 6.5 ile 75.2 arasında değişen, SD: 29.5
Sağlıklı Gönüllüler	
Cinsiyet(erkek/kadın)	5/5
Yaş(Yıl)	Ortalama: 48, 40 ile 56 arasında değişen, SD: 5
BMI (kg/m ²)	Ortalama: 27, 21 ile 32 arasında değişen, SD: 4

4.3.1.1. Polisomnografi

PSG, şu anda OUAS için altın standart tanı değerlendirmesi olarak kabul edilen bir sistemdir. Çalışmada OUAS ile verileri almak ve hastalığı teşhis etmek için kullanılmıştır. Detaylı geceboyu çalışmasına katılan bütün hastalar ve onların uyku solunum şekilleri, elektrot yerleştirmeye ait uluslararası 10-20 sistemi kullanan, 44 kanallı PSG enstrümanı (Compumedics, Abbotsford, VIC, Avustralya) tarafından kaydedilmiştir. PSG değerlendirmesi, bir elektroensefalogram, 256 mV/s'lik örnek bir hız ile elektrookülogram, 10-100 Hz filtreleme ile submental elektromyogram ve 0,3-30 Hz filtrasyon ile elektrokardiyogram içermektedir. Nefes alma eforu 0,05-3 Hz filtrasyon ile göğüs ve karın piezoelektrik kemerleri ile gözlemlenmiştir. Hava akımı bir nazal kanül ile görüntülenmiştir. Bir parmak pulse oksimetresi oksijen doygunluğu ve nabız izleme için kullanılmıştır. Hareket sensörleri her bacağı, 1-20 Hz filtrasyonda bacak hareketlerini kaydetmek için yerleştirilmiştir. Referans veri değerlendirmelerinde %80-95 uyum gösteren (n=50) ve en az 1000 PSG çalışması deneyimi bulunan iki göğüs uzmanı, Rechtschaffen ve Kales

(1968), kriterlerine göre PSG sonuçlarını işaretlemiştir. En azından bir 10 sn süren hava akımı durması apne ve desatürasyonuna delil olarak kabul edilen %3 ya da daha fazla kılcal damar oksijen satürasyonunda bir azalma olarak kabul edilmiştir.

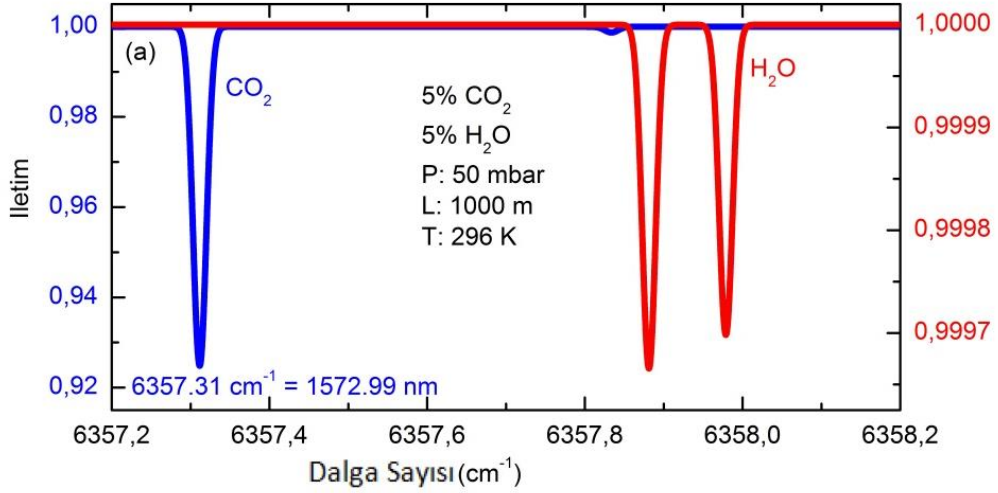
Çalışmamızda uyarılma ya da desatürasyon ile birlikte 10 sn veya daha uzun süren uyku sırasında en azından %50 oranında olan azaltılmış hava akımının bir bölümü hipopne olarak kabul edilmiştir. Oksijen doygunluğu seviyesi (ODI) tahmini uyku süresiyle ayrılan işaretlenmiş desatürasyonların sayısı olarak hesaplanmıştır (yatakta uyanma zamanı). OUAS tanısı, AHI> 5 olay / saat olduğunda konmuştur. Saatteki obstrüktif olay sayısı (AHI), OUAS şiddetini ölçmek için bir ölçü olarak kullanılmıştır. Hafif OUAS (AHI 5-15 olay/saat), orta dereceli OUAS (AHI 15-30 olay/saat), ve şiddetli OUAS (AHI > 30 olay/saat), Amerikan Akademisi'nin (American Academy of Sleep Medicine Task Force 1999) raporuna göre kabuller yapılmıştır. Şu anki çalışmamızda, aseton (Yapıştırıcı çıkarıcı olarak), kolodyum (bir yapıştırıcı olarak) gibi sonucu etkileyecek herhangi diğer kimyasal maddeler klinik polisomnografik prosedürler için kullanmamıştır.

4.3.1.2. OA-CEAS ile nefes analizi

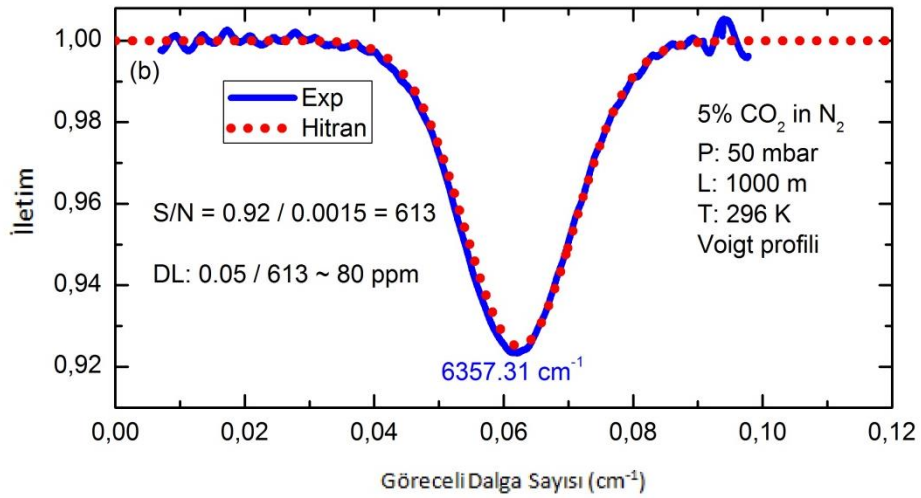
Tek kullanımlık polietilen atık torbaları (Şekil 4.14b), alveol havasından ölü boşluk havasını ayırmak için kullanılmıştır. Nefes torbasına ilk olarak üflendiğinde ölü boşluk havasının toplanmasını sağlayan atık torbası dolar, sonrasında atık torbasının girişindeki vana basıncın artması ile havayı alveoler hava toplama torbasına yönlendirir. İki yönlü gaz vanası (Hans Rudolph, AŞ.) ve nefes analizi için kalibre edilmiş bir kütle akışı kontrol cihazı (Alicat, MCV-2SLPM-D/5M) toplama torbasında alveoler hava örneğini soğurma hücrelerine (CRD Optics) aktarmak için kullanılmıştır.

Alveoler hava ile dolu CEAS hücreyi yoluyla bir CO₂ transmisyon sinyali örneği Şekil 4.25'de gösterilmiştir. Şekil 4.26'de HITRAN veritabanı ile soğurma çizgisinin örtüştüğü görülmektedir. Şekil 4.27, yüzde iletim birimleri içerisinde

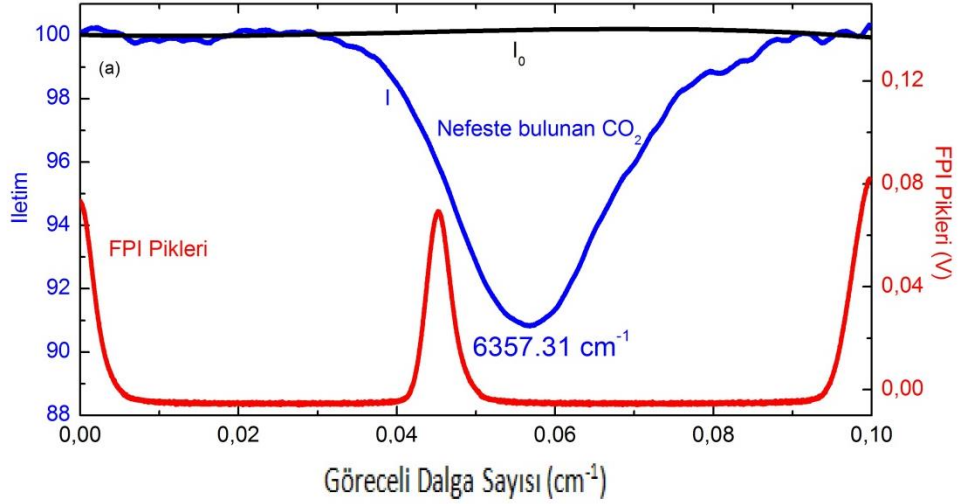
çizilmiştir ve FPI pikleri üzerinde gösterilmiştir. CO₂ soğurma katsayısı, Denklem (4.1) 'e göre hesaplanan 6357.31 cm⁻¹'de gözlenmiştir.



Şekil 4.25. HITRAN veritabanı kullanılarak hesaplanan CO₂ ve H₂O soğurma çizgileri

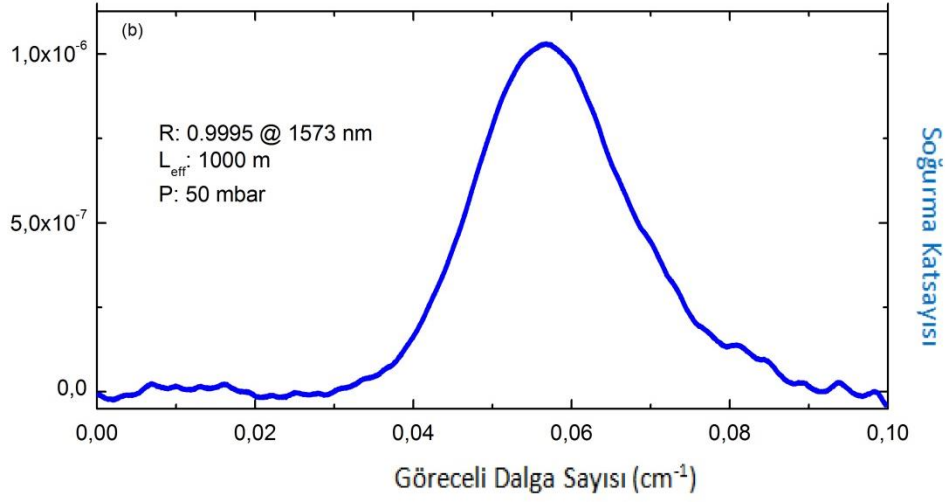


Şekil 4.26. HITRAN veritabanı kullanarak hesaplanan teorik sonuç ile çok iyi uyum gösteren 6357.31 cm⁻¹'de (Kesikli mavi çizgi) N₂ içerisinde %5 CO₂ ile dolu CEAS hücresi yoluyla iletim sinyali (Noktalı kırmızıçizgi). DL, Tespit limiti



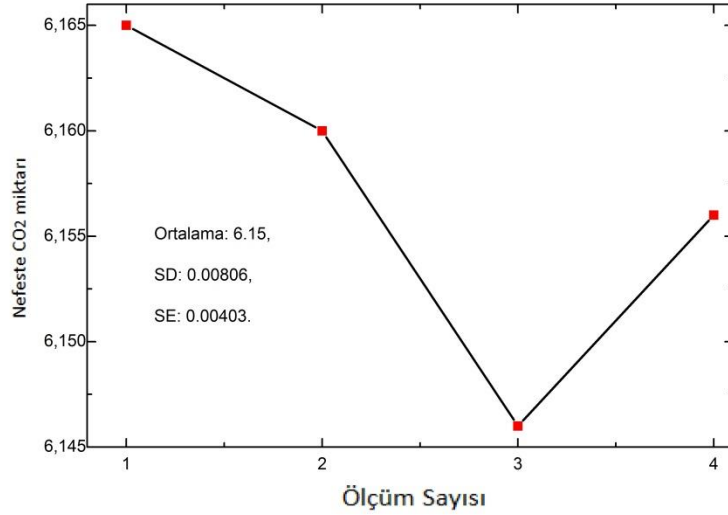
Şekil 4.27. Alveoler havayla dolu CEAS hücresi yoluyla CO₂ iletim sinyali. 6357.31 cm⁻¹'de CO₂ izole soğurma çizgisi gözlenebilir. Veriler, yüzde iletim birimlerinde kesikli çizgiler halindedir ve FPI pikleri gösterilmektedir.

Denklem (4.1)'e göre hesaplanmış soğurma $[(I_0/I)-1]/d$, CO₂ konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak çizilmiştir (Şekil 4.28). Ayna yansıması, Denklem (4.1)'i kullanan netice olarak oluşan doğrusal uygunluğun eğiminden belirlenmiştir. Bu ölçümlerden, 1000 m efektif bir yol uzunluğuna tekabül eden ayna yansıması $R=0,9995$ olarak belirlenmiştir. CO₂ konsantrasyonu, çizgi gücünden, soğurma çizgisi altındaki alandan ve toplam moleküler konsantrasyonundan hesaplanmıştır. Çizgi gücü, 6357.31 cm⁻¹ de CO₂ soğurma çizgisi için 1.66×10^{-23} cm⁻¹/molekül cm⁻² olarak belirlenmiştir (Rothman vd., 1998). R'nin ayna yansıması ve d (50 cm)'nin kavite aynaları arasındaki mesafe olduğu yerde soğurma katsayısı verilmiştir.



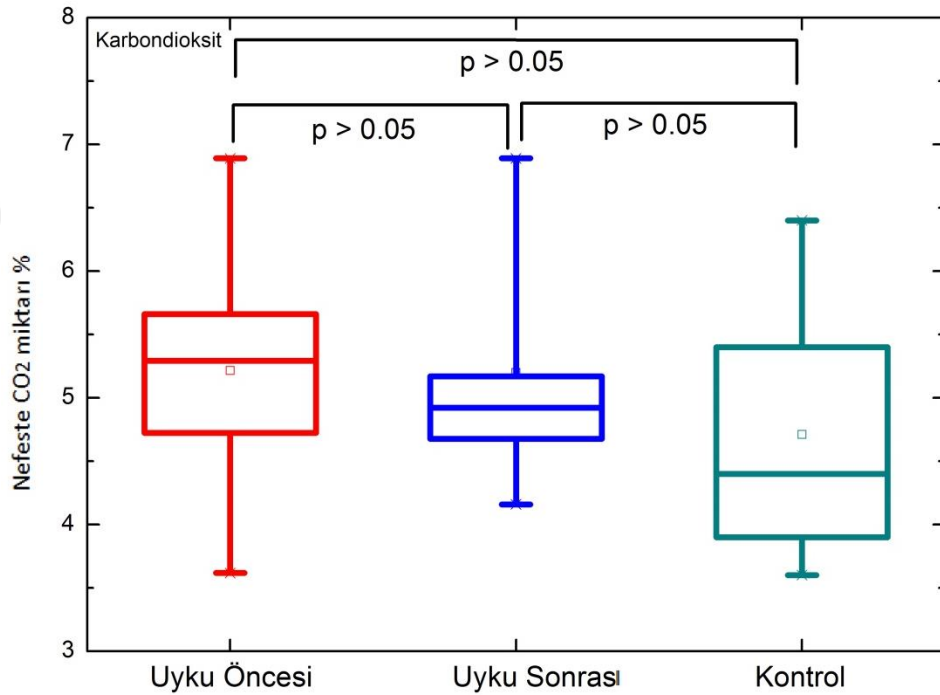
Şekil 4.28. CO₂ soğurma katsayısı.

Nefes CO₂ konsantrasyonları ile birlikte gönüllüler için ölçümler, ölçüm hatası nedeniyle ne kadar varyasyon olduğunu belirlemek için yenilenmiştir (Şekil 4.29). Ortalama, 6.146 olarak %6.165 ile %6.13 arasında değişen değerler olarak bulunmuştur. Standart sapma (SD) ve standart hata (SE) sırasıyla 0.00806 ve 0.00403 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.29. Nefes CO₂ konsantrasyonları ile gönüllülerin kalibrasyon için çoklu ölçümleri

Geliştirilen OA-CEAS sistemi ile 6357.31 cm⁻¹'de CO₂ izole soğurma çizgisi elde edilerek nefeste bulunan CO₂ miktarları OA-CEAS sistemi ile başarı ile tespit edilmiştir. Uyku öncesi ve sonrası OUAS'lı hastalarla uyku sonrası için sağlıklı bireyleri, nefes havalarında bulunan CO₂ konsantrasyonları kutu diyagramı ile kıyaslanmıştır (Şekil 4.30). Sağlıklı bireylerin nefeslerinde, %3.6 ve %6.4 arasında değişen oranlarda olmak üzere, ortalama %4.7 seviyesinde CO₂ ve OUAS hastalarında uyku öncesi alınan nefeste %3.6 ve %6.8 arasında değişen oranda olmak üzere, ortalama %5.2 oranda CO₂, uyku sonrasında alınan nefes havalarında ise, %4.1 ve %6.9 arasında değişen oranda olmak üzere, ortalama %5.2 oranında CO₂ saptanmıştır. Uykudan önce incelenen nefes havalarında bulunan CO₂ ile, sağlıklı bireylerin nefesi kıyaslandığında, nefesle dışarı verilen CO₂ seviyelerinde ve uyku sonrası nefeste bulunan CO₂ arasında belirgin bir değişiklik gözlemlenmemiştir (p > 0.05).



Şekil 4.30. Uyku öncesi ve sonrası OUAS'lı hastalarla, uyku sonrası sağlıklı bireylerin nefeslerinde bulunan CO₂ molekülünün kıyaslanması.

4.3.1.3. TD-GC/MS ile nefes analizi

OUAS hastalığında nefeste açığa çıkan moleküllerin araştırılması için analitik yöntemlerden TD-GC/MS kullanılmıştır. Çalışmada OUAS hastalarının ve sağlıklı kontrol grubunun nefeslerindeki aseton ve bütanol miktarları araştırılmıştır.

Nefesle verilen hava örnekleri her OUAS hastasından uykudan önce (akşam 8:00) ve uykudan sonra (sabah 8:00) ve her sağlıklı denekten uykudan sonra (sabah 8:00) toplanmıştır. TD-GC/MS analizi için, nefes örnekleri Bio-VOC sistemi kullanılarak toplanmış ve daha sonra Tenax-TA 200 mg polimer termal ayrıştırıcı kartuşlarına transfer edilmiştir (Markes, Bio-VOC). Tenax-TA 200 tüpleri, nefesten alınan ve su buharı için düşük bağlanma gücüne sahip olmasına karşılık, uçucu ve yan uçucu bileşiklerin yakalanması için uygundur. Örneklerin toplanmasından sonra, Tenax-TA tüpleri $<4^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, UOB'lerin buharlaşmasının engellenmesi için buzdolabında saklanmıştır. Kullanılan aparatlar Şekil 4.31'de gösterilmiştir.



Şekil 4.31. Nefes örneklerini toplama aparatları

Hastalardan nefes örneği alınırken (Şekil 4.32), nefes toplama tüpünde tek taraflı olan vana ağza yakın yerde bulundurulmuştur. Nefes verilen hacim Tidal Volüm denilen akciğerlerde bulunan havanın nefes toplama tüpü içerisinde kalmasını sağlar.



Şekil 4.32. Hastalardan örnek alınımı

Bu aşamadan sonra hızlı bir şekilde kartuşların iki ucu açılarak hızlı bir şekilde nefes toplama tüpüne takılmıştır. Ardından 10 sn'de tıpanın itilmesi ile hava kartuşlara iletilmiştir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33. Nefes havasının 10 sn içinde kartuşa iletilmesi

Alınan örnekler (Şekil 4.34) hızlı bir şekilde buzdolabına konulmuştur. Kartuşların buzdolabında saklanma maksimum süresi 20 gün olarak üretici firma tarafından belirtilmiştir.



Şekil 4.34. Hastalardan uyumadan önce, uykudan hemen sonra alınan ve hastanın bulunduğu ortamdaki alınan hava örneği

Hastalardan nefes almak için ayrıca hastaya gönüllü olduklarına formu imzalatılmaktadırlar. Çalışmamızda "Agilent 7890A" cihazı kullanılmaktadır. Ayrıca termal ayrıştırıcı sisteme entegre edilmiştir (Şekil 4.35).



Şekil 4.35. Kullanılan TD-GC/MS (Agilent 7890A)

MS ile birlikte olarak GC yaygın olarak nefes analizi için kullanılmaktadır. Bu çalışmada, TD-GC/MS nefes aseton ve bütanol molekül miktarları analizi için kullanılmıştır (Agilent Teknolojileri 7890A 5975C). UOB'ler, GC/MS içerisine enjekte edilmiş termal ayrıştırıcılar tarafından termal olarak ayrıştırılmışlardır. Termal ayrıştırıcı için koşullar Çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Termal ayrıştırıcı ayarları

Ön desorpsiyon ayarları	
Beklemede ayrılma (Split on in stand by)	
Akış yolu sıcaklığı	200°C
Minimum taşıyıcı basıncı	5 psi
Ön Temizleme zamanı	1 dk
Tüp / örnek desorpsiyon ayarları	
Tüp ayrıştırma zamanı	5 dk
Tüp ayrıştırma sıcaklığı	250°C
Yakalama ayarları (Trap Setting)	
Ön-yakalama ateşleme iletimi (Pre-Trap fire purge)	Minimum 1 dk yakalama akışı (1 min trap flow)
Düşük yakalama (Trap low)	-10°C
Yakalama ısıtma oranı	Maksimum
Yakalama tutma / dakika	3 dk
Ayrılma	Açık
Yakalama Üst Seviye	300°C

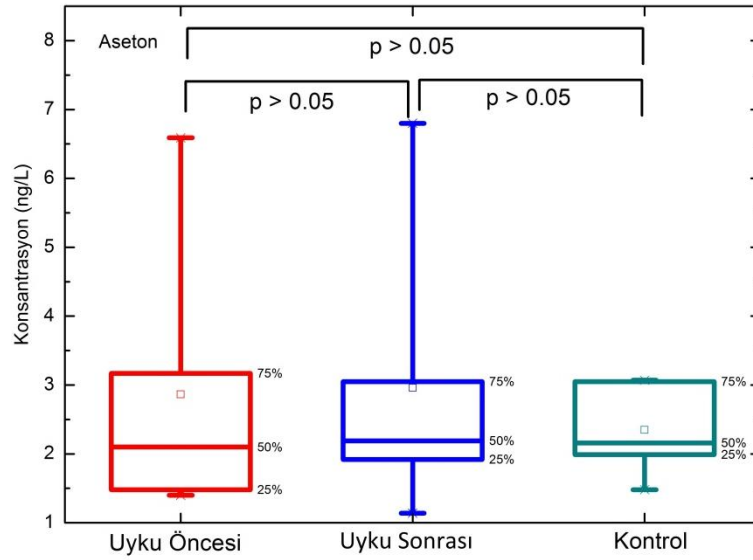
TD sistemine ayrımsız (bölmesiz) mod uygulanmıştır. GC/MS enjektör sıcaklığı 250°C'ye ayarlanmış ve akış hızı 20 psi olarak ayarlanmıştır. Kolon fırını sıcaklığı 4 dakika boyunca 60°C'de tutularak ve daha sonra dakikada 20 °C artırılarak 180 °C'ye yükseltilmiştir. 15 dakika boyunca 180 °C'de tutulduktan sonra, sıcaklık tekrar 4 °C/dk bir oranda 215 °C'ye yükseltilmiştir. 20 dakika boyunca bu sıcaklıkta tutulmuştur. Ayrıca kolon fırını dakikada 4 °C olmak üzere 240 °C'ye kadar ısıtılmıştır. 35 dakika boyunca bu sıcaklıkta tutulmuştur. Daha sonra analitler DB-5 polar olmayan 30 m uzunluğunda ve 0,25 mm iç çaplı kılcal sütun içerisine enjekte edilmiştir. Seçici iyon takibi (SIM) modu alt algılama sınırlarını elde etmek için kullanılmıştır. SIM modu tam tarama modunda çok daha etkin sonuçlar almamızı sağlar. Helyum gazı (%99.999), analitik sütunda yaklaşık 20 psi'lik bir akış ile bir taşıyıcı olarak kullanılmıştır. Ayrı bileşiklerin iyonlaşması 70 eV'de elektron darbesi iyonizasyonu ile gerçekleştirilmiştir.

SIM modu kalibrasyonu için manuel olarak TD-GC/MS cihazına farklı konsantrasyonlardaki standartların enjekte edilerek tanıtılması gerekmektedir. Daha sonra aynı sıcaklık programı, bir örneğin analizi için uygulanmış ve nefes havası karışımı içerisindeki moleküller tanımlanmıştır. Çalışmada kalibrasyon eğrilerinin lineer olduğu görülmüştür.

OUAS hastalarında uyku öncesi ve sonrası dışarı verilen nefes havası içerisindeki aseton konsantrasyonları ile sağlıklı kişilerde uyku sonra ölçülen değerleri karşılaştırmak için bir kutu diyagramı kullanılmıştır (Şekil 4.36). OUAS hastalarında uykudan önce (1.2 ppm) ile 1.4 µg/L (0.6 ppm) ve 6.6 µg/L (2.9 ppm) arasında değişen oranda, ortalama 2.8 µg / L, uykudan sonra 1.13 µg/L (0.49 ppm) ve 6,8 µg/L (2.96 ppm) arasında değişen oranda, ortalama 3 µg/L (1.3 ppm) gösterirken, sağlıklı gönüllüler 1.5 µg/L (0.65 ppm) ve 3.2 µg/L (1.39 ppm) arasında değişen oranlarda, ortalama 2.5 µg/L (1.09 ppm) olmak üzere nefeslerinde aseton bulunmuştur. Bu nedenle, uyku sonrası nefes havasında aseton düzeylerinde, uyku öncesi olanlara ve sağlıklı bireylere kıyasla belirgin bir değişiklik gözlemlenmemiştir ($p > 0.05$).

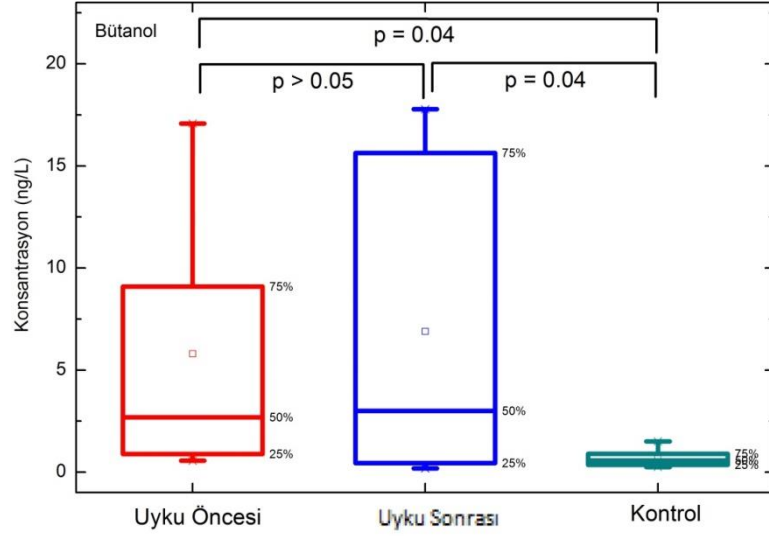
Birimlerin dönüşümü aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır:

- Aseton molar kütle: 58.08 g/mol
- $1 \text{ ppm} = (3.97 \times 10^{-8} \text{ mol/L}) \times (\text{molar kütle})$.



Şekil 4.36. Sağlıklı gönüllüler ve OUAS hastalarından nefes havasında bulunan aseton seviyelerinin kutu diyagramı karşılaştırması

Ayrıca, uyku öncesi ve sonrası OUAS'lı hastalarla uyku sonrası için sağlıklı bireyleri, nefes havasında bulunan bütanol molekülü konsantrasyonları bağlamında kıyaslamak için tekrar kutu diyagramı oluşturulmuştur (Şekil 4.37). Sağlıklı gönüllülerden alınan nefes havasında 0.2 ng/L (0.07 ppb) ve 1.5 ng/L (0.51 ppb) arasında değişen oranlarda olmak üzere ortalama 0.8 ng/L (0.27 ppb) seviyesinde bütanol molekülü ve OUAS hastalarından alınan nefes havasında uyku öncesi 0.5 ng/L (0.17 ppb) ve 17 ng/L (5.7 ppb) arasında değişen oranlarda olmak üzere, ortalama 5.7 ng/L (1.9 ppb), uyku sonrasında 0.2 ng/L (0.07 ppb) ve 17.9 ng/L (6.09 ppb) arasında değişen değerlerde, ortalama 6.9 ng/L (2.35 ppb) bütanol saptanmıştır. Bu nedenle, uyku öncesi seviyelere kıyasla, istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p > 0.05$) bulunmayan hastalarda uyku sonrası ve uyku sonrası seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark ($p = 0.04$) bulunan sağlıklı bireylerde nefes ile verilen bütanol molekülünün yüksek bir konsantrasyonu bulunmuştur. Birimlerin dönüşümü için, bütanol molekülünün molar kütlesi 74.12 g/mol olarak alınmıştır.



Şekil 4.37. Uyku öncesi ve sonrası OUAS'lı hastalarla, uyku sonrası için sağlıklı bireylerin nefes havalarında bulunan bütanol molekülünün kıyaslanması

Uyku öncesi, uyku sonrası ve kontrol grubu nefes havalarında bulunan aseton bütanol ve karbondioksit molekül miktarları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4. TD-GC/MS ve OA-CEAS ile OUAS hastalarının nefeslerinde bulunan aseton, bütanol ve karbondioksit molekül miktarları

Molekül	Örnekleme	Min	Maks	Ortalama
Aseton	Uyku Öncesi	0.4 ppm	1.48 ppm	0.93 ppm
	Uyku Sonrası	0.49 ppm	2.96 ppm	1.62 ppm
	Kontrol Grubu	0.65 ppm	1.39 ppm	1.09 ppm
Bütanol	Uyku Öncesi	0.05 ppb	0.92 ppb	0.41 ppb
	Uyku Sonrası	0.07 ppb	6.05 ppb	1.84 ppb
	Kontrol Grubu	0.07 ppb	0.51 ppb	0.27
CO ₂	Uyku Öncesi	%3.6	%6.8	%5.2
	Uyku Sonrası	%4.1	%6.9	%5.2
	Kontrol Grubu	%3.6	%6.4	%4.7

OUAS hastalarında, uyku sonrası değerler uyku öncesi seviyelerle kıyaslandığında ve sağlıklı kontrol grubunda olanlar ile kıyaslandığında, nefesle

dışarı verilen aseton ve karbondioksit seviyelerinde anlamlı değişiklikler gözlemlenmemiştir. Nefes analizi ile uyku öncesi ve sonrasına bakıldığında bütanolün konsantrasyonunun arttığı görülmüştür. Bu sonuçlar, gelecekte OUAS'ın girişimsel olmayan tanısı için bütanol molekülünün, potansiyel bir biyoişaret olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

4.4. Nörolojik Hastalarda Nefes Analizi

4.4.1. VPA kullanan epilepsi hastalarının nefeslerindeki amonyak molekülü miktarının OA-CEAS yöntemi ile analizi

Epilepsi, santral sinir sisteminin kortikal veya subkortikal bölgelerinde yer alan nöron gruplarının ani, anormal ve hipersenkron deşarjları sonucu ortaya çıkan ve genellikle tekrarlayıcı nitelikte olan bir nörolojik bozukluktur (Genç vd., 2013). Tekrarlayıcı şekilde seyreden epilepsi nöbetlerine sıklıkla duygu ve hareket bozuklukları ve geçici bilinç kaybı eşlik eder (Fisher vd., 2005).

VPA (Valporat veya valproik asit) ülkemizde daha çok Convulex ve Depakin isimleri altında piyasada bulunmaktadır. Valproik asit ilk olarak 1882'de Beverly S. Burton tarafından kedi otundan (valerian) sentezlenmiştir (Burton, 1882). VPA ilacının içinde, karbon, hidrojen, oksijen, sodyum gibi ilaveler bulunmaktadır. VPA karaciğerde parçalanılarak atılır. Günde bir ya da iki kez alınmalıdır. VPA psikiyatrik bozukluklarda da kullanılmaktadır. VPA ilaçla zehirlenme olgularına yol açabilmektedir (Şule 2006). Bu yüzden hastaların rutin olarak kanlarında bulunan VPA miktarlarını ve amonyak miktarlarını kontrol etmek amacı ile kan tahlili yaptırmaları gerekmektedir. VPA zehirlenmesinin en yaygın bulgusu merkezi sinir sistemi depresyonudur. Ayrıca hiperamonyemi, pankreatit metabolik ve hematolojik bozukluklar da görülebilmektedir. Çalışmamızda kanda bulunan amonyak ve VPA miktarı ile nefeste açığa çıkan amonyak miktarı arasındaki ilişki araştırılmış, ileri aşamalarda nefes analizi yöntemi kullanılarak ilaç kullanımının planlanması için kullanılabilirliği araştırılmıştır.

VPA, oral olarak alındıktan sonra hızla ve tama yakın emilir. Plazma pik konsantrasyonuna yaklaşık 2 saat sonra ulaşır (Arpat, 2006). Karaciğerde metabolize olurlar ve aktif metabolitine dönüşerek, üre metabolizmasında yer alan karbamil fosfat sentetaz ve ornitin karbamil transferaz enzimlerini engellemektedir. Bu nedenle VPA karaciğerde üre sentezinin aksamasına neden olur ve toksik bir madde olan amonyak, kanda yükselir. Ayrıca VPA'nın böbreklerde mitokondri membranından glutamin geçişini artırması ile, kanda amonyak birikmesine katkı bulunduğu bildirilmiştir (Eryılmaz vd., 2014).

Nefesteki amonyak, ileri karaciğer hastalığı sonucu ortaya çıkan hepatik ensefalopati gibi nörolojik hastalıkların tanısında biyoşaret olarak kabul edilir. Karaciğer işlev bozukluğu hiperamonyeri (kandaki amonyak seviyesini arttırır) ile birlikte ortaya çıkar. Hiperamonyemi VPA ile tedavi gören hastalar ile de ilişkilendirilmiştir.

Kanda artan amonyak konsantrasyonu epilepsi hastalarında nefes amonyağı seviyesini arttırabilir. Dallanmış kısa zincir yağ asidi olan VPA, anti-epileptik bir ilaçtır ve epilepsi, migren ve psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılır.

Epilepsi ilacı olarak kullanılan VPA'nın yan etkilerinden olan aşırı amonyak artışı nefes ile araştırılmıştır. Bilindiği kadarıyla mevcut çalışma ilk defa nefesteki amonyak seviyesi ile kan VPA konsantrasyonu arasındaki korelasyonu incelemiştir. Gelecekte nefes amonyağı ölçüm sisteminin epilepsi tedavisinde kullanılma potansiyeli vardır. Bu alanda daha kapsamlı çalışmalar gereklidir.

Amonyak, protein metabolizması sonucu oluşan nitrojen döngüsünün bir bileşenidir. Amonyak vücut sıvılarında, iyonlaşmamış amonyak (NH_3) ve amonyum iyonu (NH_4) olarak iki şekilde bulunmaktadır. Oldukça toksik olan NH_3/NH_4 karaciğerde üre ve sitrik asit siklusu yoluyla daha az toksik olan üreye dönüştürülür. Üre kan dolaşımı yoluyla böbreklere iletilir ve ardından böbrekler vasıtasıyla idrarla vücuttan atılır. Sağlıklı bir kişide kandaki amonyak vücuttan gereğince süzülebilir ve karaciğer ve böbrekler tarafından zararsız hale getirilebilir. Bu organlarındaki yetmezlik veya bozukluk kandaki amonyak

seviyesinin yükselmesine neden olur. Bu amonyak daha sonra akciğerlere yayılır ve solunum yoluyla dışarı çıkar. Yüksek konsantrasyondaki amonyak insan vücudu için tehlikeli hale gelir. Bu nedenle, amonyak insan vücudunda önemli bir rol oynamaktadır.

Çalışmamızda (Bayraklı vd., 2016b), nefes örnekleri ve kan alınan hastalar, Süleyman Demirel Araştırma ve Eğitim Hastanesi çalışanları ve hastaları arasından seçilmiştir. On beş sağlıklı gönüllü (25 ve 51 yaşları arasında 7 kadın/8 erkek), epilepsi rahatsızlığı bulunan ve VPA kullanan 10 hasta (30 ve 60 yaşları arasında 6 erkek/4 kadın) çalışmaya katılmıştır. Aktif enfeksiyon, kanser, helicobakter pilori enfeksiyonu, karaciğer yetmezliği ve hamilelik dışlama kriterleri olarak belirlenmiş ve çalışmaya dahil edilmemiştir. Sigara içen ve alkol tüketen katılımcılar, hastanın değerlendirilmesine engel olacak durumda ağır nörolojik definiti olan, kognitif etkilenmesi olan ve eşlik eden, depresyon ve/veya sistemik bir başka rahatsızlığı olan hastalar da ayrıca çalışmaya dahil edilmemiştir. Biyokimyasal analiz için toplardamar kan örnekleri nefesteki amonyak ölçümleri ile birlikte alınmıştır. Hastaların ve sağlıklı gönüllülerin demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Epilepsili 10 hasta ve sağlıklı 15 gönüllünün demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri

VPA kullanan Epilepsi Hastaları	
Cinsiyet (bay/bayan)	6/4
Yaş (yıl)	30 ile 60 arası Ortalama: 45 Standart Sapma (SS): 12
BMI (kg m ⁻²)	25 ile 36 arası Ortalama :30 SS: 4
NH ₃ (ppb) (VPA kullanımından önce)	250 ile 1090 arası Ortalama 636 SS: 279
NH ₃ (ppb) (VPA kullanımından sonra)	450 ile 1477 arası Ortalama 989 SS: 317
VPA	72.63 ile 126.30 arası Ortalama: 44 SS: 88.53
Sağlıklı Kontrol Grubu	
Cinsiyet (bay/bayan)	8/7
Yaş (yıl)	25 ile 51 arası Ortalama: 33 Standart Sapma (SS): 11
BMI (kg m ⁻²)	23 ile 38 arası Ortalama :29 SS: 7

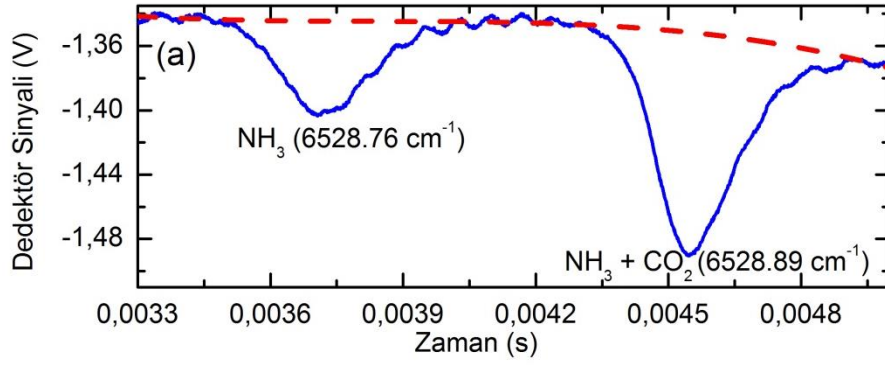
Katılımcılardan bir gece önceden bir şey yememeleri istenmiştir. Tüm örnekler sabah 08:00 ile 11:00 arasında VPA kullanımından 2 saat sonra toplanmıştır. Katılımcıların yaşı, boyu, kilosu, kullandıkları ilaçlar, sigara kullanımı ve alkol tüketimine ilişkin bilgiler form doldurularak alınmıştır. Çalışma hastanenin etik kurulu tarafından onaylanmıştır. Tüm gönüllülerden çalışmaya katılmalarına ilişkin olarak yazılı onaylar alınmıştır.

4.4.2. Deney düzeneği

Çalışmada kullanılan sistem OA-CEAS önceki kısımlarda anlatılmıştır (şekil 4.1). Kısaca, amonyak molekülünün 6528.76 cm^{-1} değerindeki soğurma çizgisi kullanılarak 512 adet verinin ortalaması için ~ 40 tanı limiti saptanmıştır.

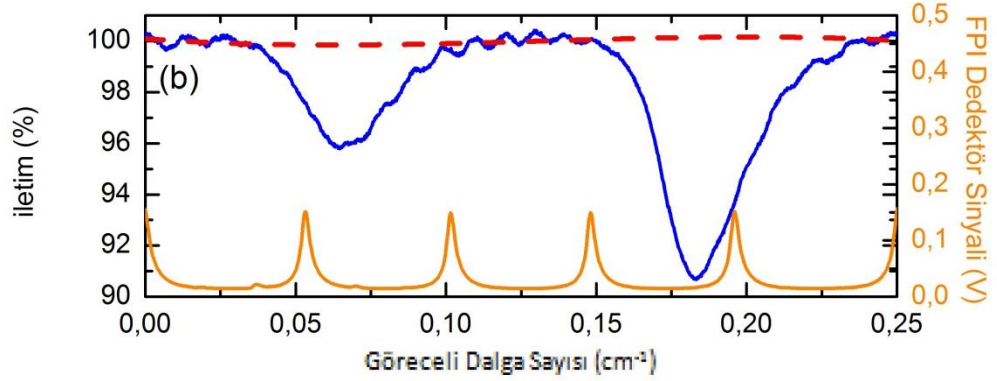
$6528,76 \text{ cm}^{-1}$ 'de NH_3 soğurma çizgisi izole bir çizgidir ve nefes analizi için uygundur. Nefes örnekleri daha önceki kısımlarda anlatıldığı üzere nefes torbaları (Quintron) ile toplanmıştır. Sistem de kütle akış denetleyici (Alicat, MCV-2SLPM-D/SM) ve iki yönlü yeniden sızdırmaz valf (Hans Rudolph Inc.) daha önce anlatıldığı üzere kullanılmıştır. Tekrar aynı şekilde ölçümler alınmadan önce hücre, vakum pompası (Agilent, IDP-3) kullanılarak minimum başarılabilen değere ($\sim 10^{-2}$ mbar) boşaltılmış ve ardından 30 dakika boyunca kapalı ortam havası ile temizlenmiştir. Hücre 1000 mbar'a kadar saf N_2 ile doldurulduktan sonra tekrar boşaltılmıştır. Hücre amonyağı ayna yüzeyinden ve hücre duvarlarından temizleyebilmek için 35 ile 40°C 'ye kadar ısıtılmış, ölçüm düşürülmüş 50 mbar basınçta gerçekleştirilmiştir. Kütle akış denetleyicinin akış oranı 1500 sccm'dir.

İletim sinyalinin alveoler hava ile dolu CEAS hücresinden geçişine bir örnek şekil 4.38'de verilmiştir. Burada, NH_3 'ün 6528.89 cm^{-1} 'de izole soğurma çizgisi ve NH_3 ve CO_2 'nun 6528.89 cm^{-1} 'de izole soğurma çizgisi görülebilir. Çizgi güçleri sırasıyla, 6528.76 cm^{-1} 'deki NH_3 soğurma çizgisi için $2.5 \times 10^{-21} \text{ cm}^{-1}/\text{molekül cm}^{-2}$; 6528.89 cm^{-1} 'deki NH_3 soğurma çizgisi için $1.24 \times 10^{-21} \text{ cm}^{-1}/\text{molekül cm}^{-2}$; 6528.895 cm^{-1} 'deki CO_2 soğurma çizgisi için $5.2 \times 10^{-25} \text{ cm}^{-1}/\text{molekül cm}^{-2}$ 'dir.



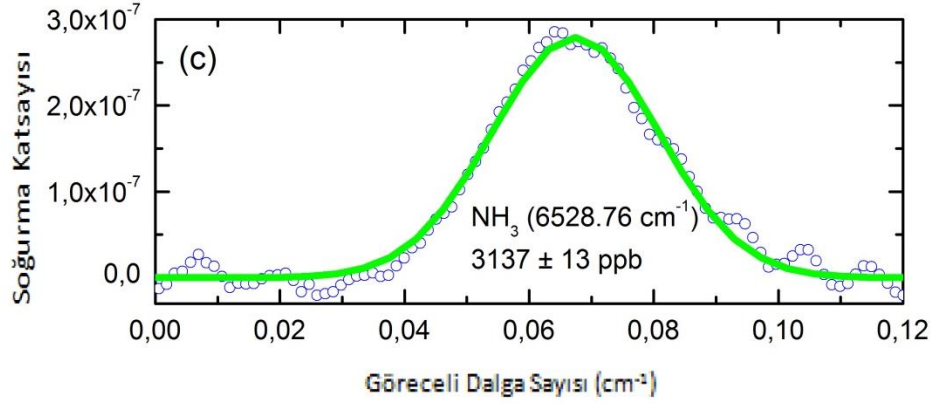
Şekil 4.38. NH_3 'ün 6528.89 cm^{-1} 'de izole soğurma çizgisi ve NH_3 ve CO_2 ' in 6528.89 cm^{-1} 'de izole soğurma çizgisi (mavi), soğurma olmadan I_0 giren ışık (kırmızı)

NH_3 ve CO_2 'nun soğurma çizgilerinin FPI sinyali üzerindeki normalize görünümü Şekil 4.39'de gösterilmiştir.



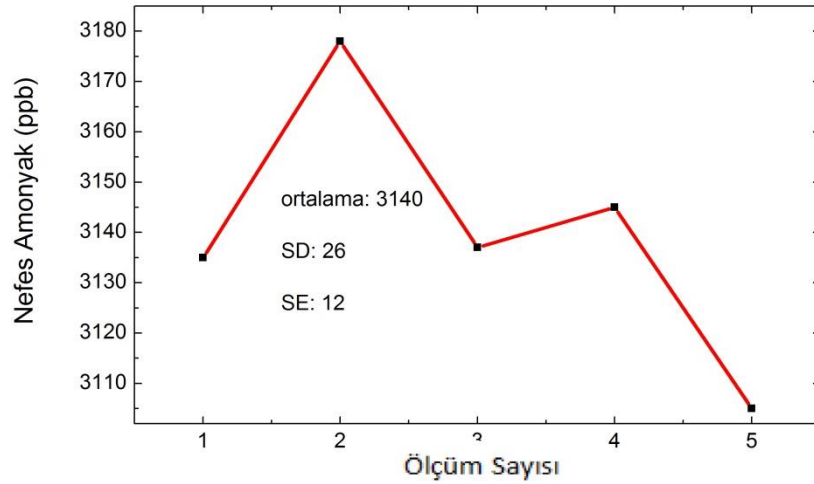
Şekil 4.39. NH_3 ve CO_2 'nun soğurma çizgilerinin FPI sinyali üzerindeki normalize görünümü

Şekil 4.40'da Denklem (4.1)'e göre hesaplanan 6528.76 cm^{-1} 'deki NH_3 soğurma katsayısı ve Voigt fit deneysel veri gösterimleri verilmiştir.

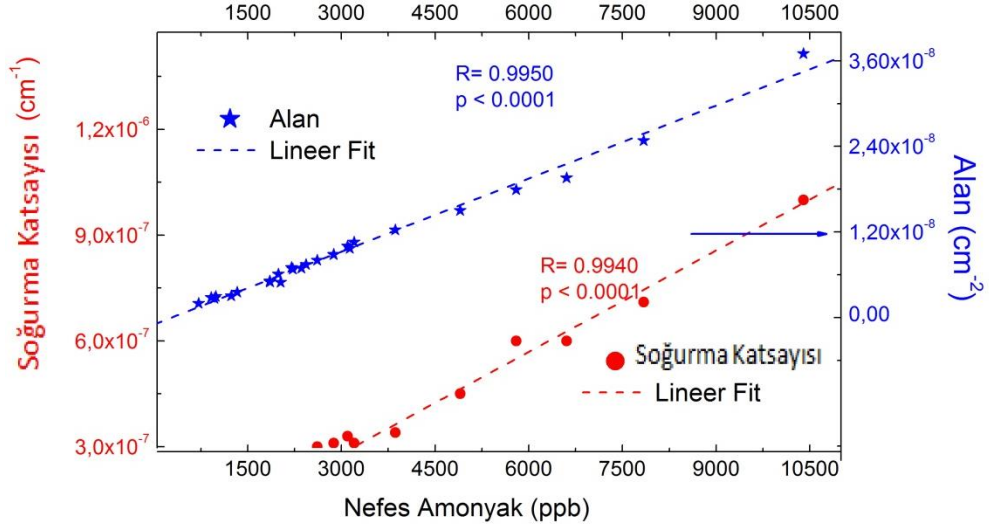


Şekil 4.40. Voigth fit (yeşil), soğurma katsayısı (mavi)

Amonyak konsantrasyonu, lazer çizgi gücü, soğurma çizgisi altındaki alan ve toplam molekül konsantrasyonu kullanılarak hesaplanır. Nefes havasında bulunan amonyak molekülünün konsantrasyonlarının ölçümleri, istatistiksel varyasyonların ne kadarının ölçüm hatası kaynaklı olduğunu belirlemek amacıyla birkaç kere daha tekrarlanarak hesaplanmıştır. Bulunan nefesteki amonyak değerleri ortalama 3140 ppb olup 3105 ppb ve 3178 ppb değerleri arasında olmuştur (Şekil 4.41). Elde edilen değerlerde standart sapma (SS) 26 ppb ve standart hata (SH) 12 ppb olarak bulunmuştur. Her ölçümdeki soğurma katsayıları için lineer ilişki Şekil 4.42’de gösterilmiştir.



Şekil 4.41. Kontrol amaçlı aynı kişiden tekrarlı nefeste bulunan amonyak molekül miktarı ölçümleri



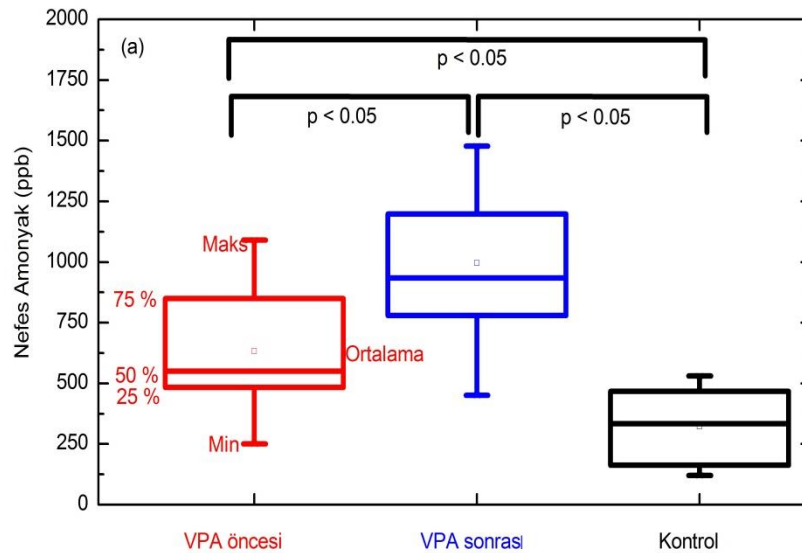
Şekil 4.42. Her ölçümdeki soğurma katsayıları için lineer ilişki

Bu çalışmada tekrar daha önce geliştirdiğimiz OA-CEAS nefesteki amonyak analizi kullanılarak noninvazif klinik tanıya uygulanmıştır. Nefesteki amonyak seviyeleri ve VPA'nın kan konsantrasyonları arasındaki ilişki çalışılmıştır. Çalışma için 15 sağlıklı gönüllü, 10 epilepsi hastasının (VPA alımı öncesi ve 2 saat sonrası) nefeslerindeki amonyak konsantrasyonları ölçülmüştür. Nefes amonyak seviyesi sağlıklı gönüllülerde 120 ve 530 ppb olarak tespit edilmiştir. Nefesteki amonyak seviyesi VPA öncesi 250 ile 1090 ppb arasında ve VPA kullanımının 2 saat sonrası 450 ile 1477 ppb arasında saptanmıştır. Sağlıklı katılımcıların ile epilepsili hastaların VPA öncesi ve sonrası dışarı solunan NH_3 seviyeleri arasında istatistiksel açıdan kıyaslama yapıldığında önemli bir fark görülmüştür ($p < 0.05$). Bununla birlikte, nefesteki amonyak seviyeleri ve kan VPA konsantrasyonları arasında önemli bir korelasyon saptanamamıştır ($r < 0.25$, $p < 0.29$) (Çizelge 4.6) Deneysel sonuçlar, gerçek zamanlı nefes amonyak ölçüm sistemimizin epilepsi hastalarının sağlık durumlarının, hızlı rutin tanıları ve sürekli izlenmesi için kullanımının mümkün olduğunu göstermiştir.

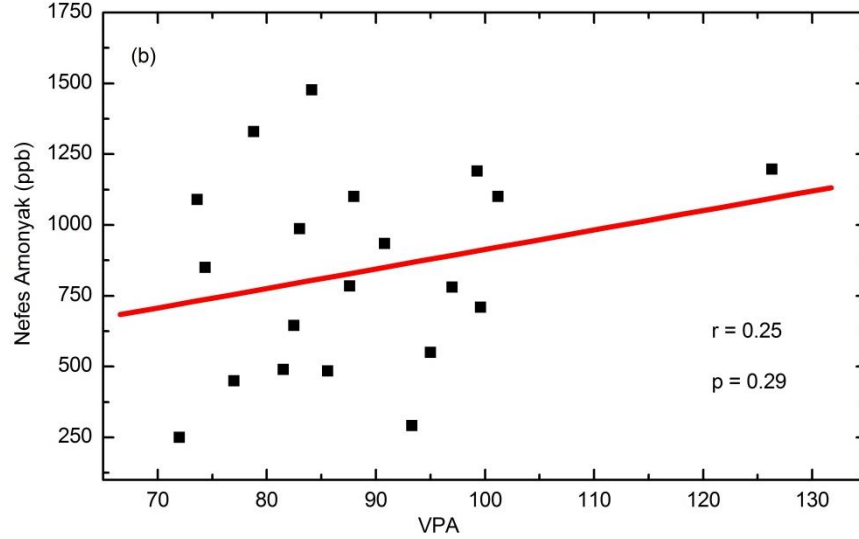
Çizelge 4.6. Nefes amonyak konsantrasyonlarının minimum, maksimum, dörütlü ve ortalama değeri

Molekül		Minimum (ppb)	%25 (ppb)	%50 (ppb)	%75 (ppb)	Maksimum (ppb)	Ortalama (ppb)
Amonyak	VPA Öncesi	250	490	555	848	1090	636
	VPA Sonrası	450	787	933	1200	1477	989
	Kontrol	120	171	340	467	530	323

Sağlıklı katılımcılar ile epilepsi hastalarında VPA öncesi ve sonrası dışarı solunan nefesteki amonyak konsantrasyonlarının karşılaştırılması için kutu grafiği kullanılmıştır (Şekil 4.43). Kutu grafiği istatistiksel bir tekniktir ve verilerin çeyreklere ayrılarak veri kümesinin dağılımını göstermek için kullanılabilir. Nefeste bulunan amonyak molekülü ve kan VPA miktarı arasında bir korelasyon bulunmamıştır (Şekil 4.44).



Şekil 4.43. VPA ilacının kullanımından önce, kullanımından sonra ve sağlıklı kontrol grubunun verilen nefes havasındaki amonyak molekülü miktarının kutu grafiği ile gösterimi



Şekil 4.44. Verilen nefes havasındaki amonyak molekülü miktarı ile kandaki VPA miktarı korelasyon gösterimi

Kutu grafiği ile sağlıklı katılımcıların nefeslerindeki amonyak 120 ile 530 ppb arası olarak, ortalama 323 ppb elde edilirken epilepsi hastalarının nefeslerindeki amonyak seviyeleri VPA öncesi 250 ile 1090 ppb arası ortalama 636 ppb ve VPA sonrası 450 ve 1477 arası ortalama 989 ppb olarak saptanmıştır. Sonuçlara bakıldığında epilepsi hastalarında VPA kullanımının öncesine oranla, sonrasında nefes havalarında amonyak miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Sağlıklı katılımcıların nefes amonyaklarının konsantrasyonları VPA kullanan epilepsi hastalarındakine oranla daha az bulunmuştur. Sağlıklı hastalarda ($p < 0.05$) ve epilepsi hastalarında VPA öncesi ve sonrası ($p < 0.05$) dışarı solunan NH_3 'te istatistiksel olarak önemli bir fark tespit edilmiştir. Nefes amonyak seviyeleri ve kan VPA konsantrasyonları arasından herhangi bir korelasyon gözlemlenmemiştir ($r = 0.25$, $p = 0.29$).

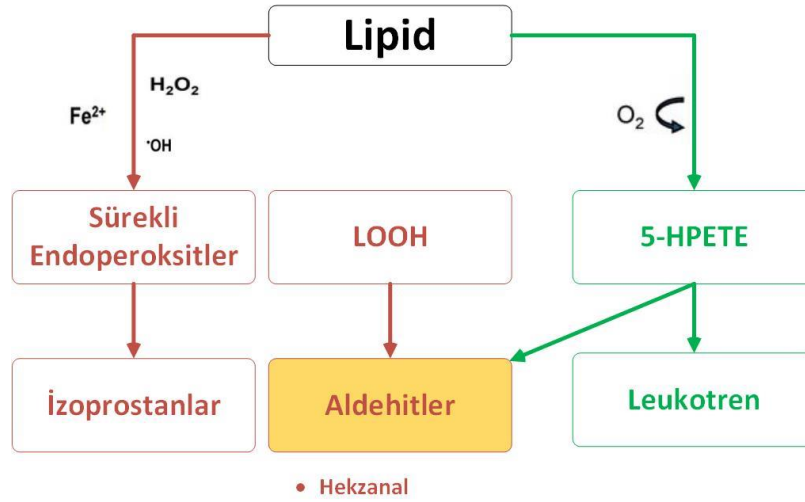
4.4.3. Hekzanal molekülü ile nörolojik hastalıklar arasında ilişki

Nörodejeneratif hastalıkların oluşumundaki rol alan ana mekanizmalar, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve inflamasyondur (Kangalgil ve Canbolat 2016). Beyin, poliansatüre yağ asit miktarının fazla olması, metabolik aktivite hızının yüksek olması ve antioksidan savunma kapasitesinin düşük

olmasından dolayı oksidatif hasara karşı çok duyarlıdır (Coyle ve Puttfarcken, 1993).

Lipid peroksidasyon sırasında, beyinde oksidatif stresin artmasına ve nörotoksiteye neden olan reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunun artmasının yanı sıra malondialdehit (MDA), nefeste hekzanal molekülü gibi lipid peroksidasyon markerlarının artışı, mitokondriyal fonksiyonlarda bozulma, indirgenmiş glutatyon (GSH), süperoksitdismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GP_x) ve glutatyon redüktaz (GR_d) gibi antioksidan enzimler de azalma görülmektedir (R. Paul vd., 2015).

Sinirsel dokularda lipid miktarı özellikle fazladır. Lipit peroksidasyonu sinir hücrelerinin lipid zengin membranlarından dolayı birçok nörolojik hastalıkta önemlidir. Lipid peroksidasyonunun ilk aşamasında yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren H atomu çıkarılması ile lipid radikali oluşur. Lipid radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksit radikalini (LOOH) oluşturur. LOOH yıkılımı geçiş metalleri iyon katalizi ile olur. Hücre zarı ve organel lipid peroksidasyonu serbest radikallerle uyarılabilir ve geçiş metallerinin varlığında artar. Hidrojen peroksitten (H₂O₂), hidroksil radikali (OH[•]) oluşması zincir reaksiyonu başlatabilir. Bu reaksiyonlar sonucu son ürün olarak aldehitler (örn. hekzanal) açığa çıkar (Demirci vd., 2013). (Şekil 4.45) Enzimler olmadan ilerleyen lipid peroksidasyonu metabolizması çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Bu reaksiyonlarda membran yapısı direkt olarak zarar görür ve üretilen reaktif aldehitler indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Bu şekilde bir çok hastalığa sebep verir (Akkuş, 1995; Burtis ve Ashwood, 1999).



Şekil 4.45. Lipid peroksidasyon metabolizması (Higdon vd., 2012)

Lipid peroksidasyon sırasında hekzanal molekülü lipid peroksidasyon biyoişareti olarak nefeste açığa çıkan moleküldür (Dillard ve Tappel, 1989; Orhan, 2007; Esterbauer vd., 1990; Pryor vd., 1991; Kinter, 1995).

Çalışmamızda (Akman vd., 2017), epilepsi, MS ve Parkinson hastalarının nefeslerindeki hekzanal miktarları kontrol grubu ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Sonuçlar kutu grafiği ile incelenerek Şekil 4.49 da gösterilmiştir. OriginPro 2016 programı kullanılarak 'Paired Sample T-test' yöntemiyle inceleme yapılmıştır. Paired Sample T-testi, iki gözlem seti arasındaki ortalama farkın sıfır olup olmadığını belirlemek için kullanılan istatistiksel bir prosedürdür. Paired Sample T-testinde, her bir özne veya varlık iki kez ölçülür ve gözlem çiftleri elde edilir. Eşleştirilmiş örnek t-testinin ortak uygulamaları, vaka kontrol çalışmaları veya tekrarlanan durumları içerir.

Nefes örnekleri alınan hastalar ve kontrol grubu ile ilgili bilgiler Çizelge 4.6'da verilmiştir. Aktif üst solunum yolları enfeksiyonu vb. solunum rahatsızlığı olan hastalar, hastanın değerlendirilmesine engel olacak durumda ağır nörolojik definiti olan, kognitif etkilenmesi olan ve eşlik eden, depresyon ve/veya sistemik bir başka rahatsızlığı olan hastalar ve MS hastaları için EDSS skoru 6.5 in üzerinde olan hastalar çalışmaya alınmamıştır. Katılımcıların yaşı, boyu, kilosu, kullandıkları ilaçlar, sigara kullanımı ve alkol tüketimine ilişkin bilgiler

form doldurularak alınmıştır. Çalışma Süleyman Demirel Araştırma Uygulama Hastanesi hastaları ile yürütülmüş ve hastanenin etik kurulu tarafından onaylanmıştır. Tüm gönüllülerden çalışmaya katılmalarına ilişkin olarak yazılı onaylar alınmıştır.

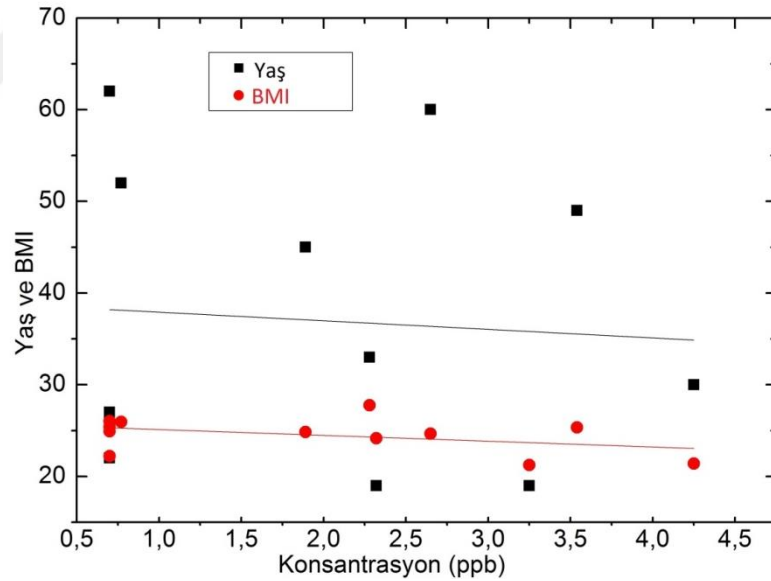
Çizelge 4.7. 12 Epilepsi hastası, 13 MS hastası, 8 Parkinson hastası ve sağlıklı 12 gönüllünün demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri

Epilepsi Hastaları	
Cinsiyet (bay/bayan)	8/4
Yaş (yıl)	19 ile 62 arası Ortalama: 36.1 Standart Sapma (SS): 15.5
BMI (kg m ⁻²)	21.2 ile 27.7 arası Ortalama :24.5 SS: 1.96
MS hastaları	
Cinsiyet (bay/bayan)	4/9
Yaş (yıl)	13 ile 49 arası Ortalama: 32.9 Standart Sapma (SS): 9.7
BMI (kg m ⁻²)	16.5 ile 37.5 arası Ortalama :24.3 SS: 5.6
Parkinson Hastaları	
Cinsiyet (bay/bayan)	6/2
Yaş (yıl)	40 ile 72 arası Ortalama: 54.1 Standart Sapma (SS): 12.2
BMI (kg m ⁻²)	19.3 ile 33 arası Ortalama :23.6 SS: 4.4
Sağlıklı Kontrol Grubu	
Cinsiyet (bay/bayan)	10/2
Yaş (yıl)	22 ile 42 arası Ortalama:27.8 Standart Sapma (SS): 7.3
BMI (kg m ⁻²)	21 ile 26.4 arası Ortalama :24.2 SS: 1.5

4.4.3.1. Epilepsi

Oksidatif stres, epilepsi dahil olmak üzere bir çok nörolojik hastalığı etkileyen faktörlerden biri olarak yer almaktadır (Patel, 2004; Waldbaum, 2010; Devi vd., 2008; Baron vd., 2007; Gao vd., 2007). Ayrıca epilepsi olan kişilerde oksidatif stres ve lipid peroksidasyon yüksek olarak görülmüştür (Deepa vd., 2008). Epileptogenez ve uzun süreli antiepileptik ilaç kullanımı oksidatif strese yol açarak nöronal hasara neden olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır (Sudha vd., 2001; Duncan ve Thompson, 2003).

Çalışmamızda epilepsi hastalarının nefeslerindeki hekzanal miktarı ile kontrol grubunun nefesleri karşılaştırıldığında, epilepsi hastalarının nefeslerinde hekzanal molekül miktarının anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.49). Epilepsi hastaları ile yaş BMI arasında herhangi bir korelasyon bulunmamıştır (Şekil 4.46).



Şekil 4.46. Epilepsi hastalarının nefeslerindeki hekzanal molekülü miktarı ile yaş BMI ilişkisi

4.4.3.2. MS

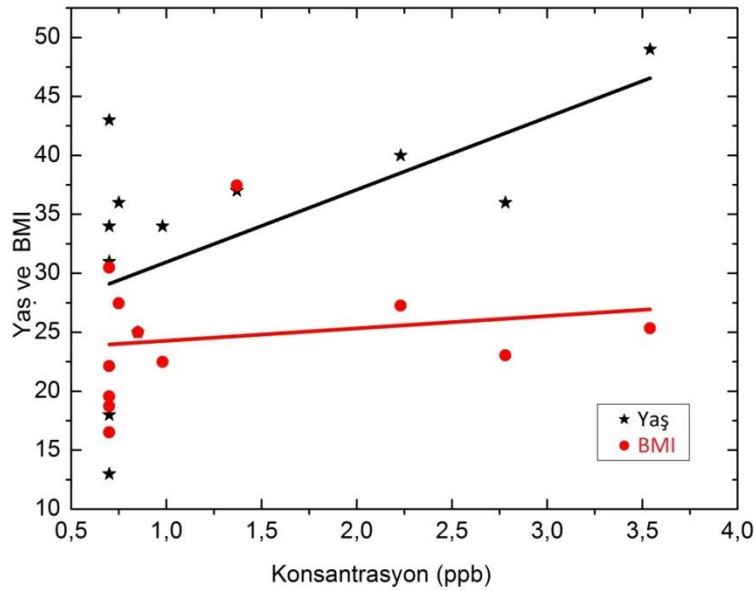
Miyelinli sinirlerde nonpolar lipidler elektriksel yalıtıcılar olarak depolarizasyon dalgalarının hızla yayılmasına olanak sağlarlar. MS hastalığında bu lipidlerin bağışıklık sisteminin zarar vermesi ile lezyon oluşumun geliştiği teorisi yaygındır. Lipidler ayrıca mitokondriye elektron taşıma işlevine yardımcı olurlar. Bütün hücrelerde iletişim, tanıma ve bağışıklık olaylarında lipidlerin de önemli rolleri vardır.

MS merkezi sinir sisteminin tekrarlayıcı ya da ilerleyici inflamatuvar demyelinizan hastalığıdır. Hastanın atak anında bağışıklık sisteminin nöron miyelinlerine saldırması ile sinir iletiminde bozukluklara yol açmaktadır. MS hastalığında beyin ve bazen spinal kordda oluşan demiyelinizan ile plakların oluşması sonucu piramidal, duysal, serebellar, nadiren otonomik ve ekstrapiramidal sistem bozukluklarına sebep olmaktadır (Tutkan, 2006). Lipid yapıdan oluşan miyelin kılıfın atak anında zarar görmesi ile lipid peroksidasyonun artacağı öngörüsü ile yapılan bir çalışmada (Toshniwal ve Zarling, 1992), lipid peroksidasyonun biyoişareti olan etan ve pentan incelenmiştir. Atak anında pentanın nefeste yüksek seyrettiği yalnız etanın artmadığını tesbit etmişlerdir. Etanın artmamasının altında yatan sebebin MS hastalarının beyinlerinde doymamış yağ konsantrasyonunun düşük olmasından kaynaklanmış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Pentanın artan oksidatif stres ile doğru orantılı olarak arttığı vurgulanmıştır. Yapılan bir diğer çalışmada MS hastalarının nefeslerinde hekzanal molekölü kontrol grubuna göre yüksek seviyede bulunmuş ve hekzanal molekölünün MS hastalığının teşhisinde %80.4 doğruluk oranında kullanılabileceklerini belirmişlerdir (Ionescu vd., 2011).

Zhornitsky vd. (2016), yaptıkları çalışmada, MS hastalığı ile lipid peroksidasyon arasında ürünleri olan 24-hidroksikolesterol ve 27-hidroksikolesterol'in hücre hasarına sebep olduklarını belirtmişlerdir. Bu moleküller MS progresyonunda rol oynamaktadırlar. Hücre hasarı ve nörotoksite arttıkça MS hastalığının ilerlediği belirtilmektedir. Alzheimer hastalığı, MS ve Huntington hastalığı gibi bazı nörodejeneratif hastalıklarda lipid peroksidasyonun etkili olduğu

belirlenmiştir (Lazar vd., 2013). Lipid peroksidasyonun MS hastalarında daha yüksek olduğunu kanıtlayan çalışmalar çoktur (P. Wang vd., 2014; Van De Kraats vd., 2013; Miller vd., 2011; Gilgun-Sherki vd., 2004; Besler vd., 2013).

Çalışmamızda MS hastalarının nefeslerindeki hekzanal molekül miktarı ile kontrol grubunun nefesleri karşılaştırıldığında, MS hastalarının nefeslerinde hekzanal molekül miktarının anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür (Şekil 4.49). MS hastaları ile yaş BMI arasında herhangi bir korelasyon bulunmamıştır (Şekil 4.47).



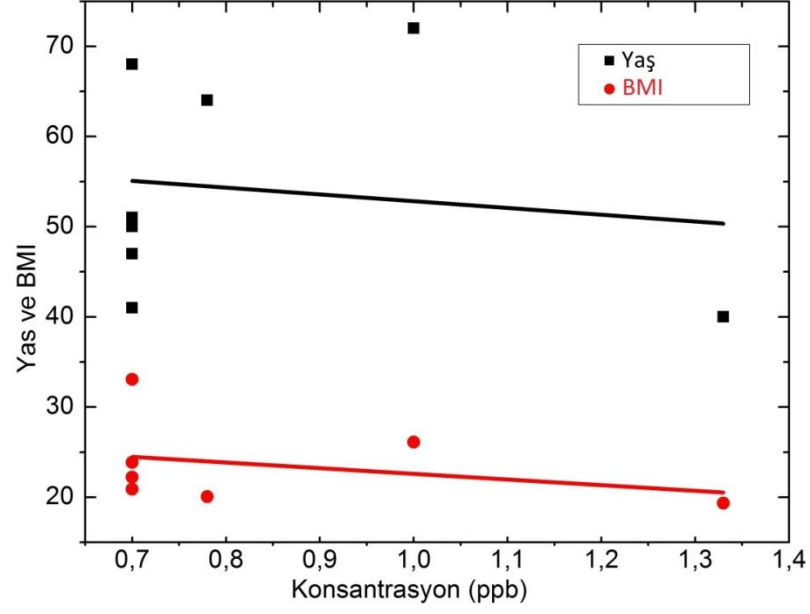
Şekil 4.47. MS hastalarının nefeslerindeki hekzanal molekül miktarı ile yaş BMI ilişkisi

4.4.3.3. Parkinson

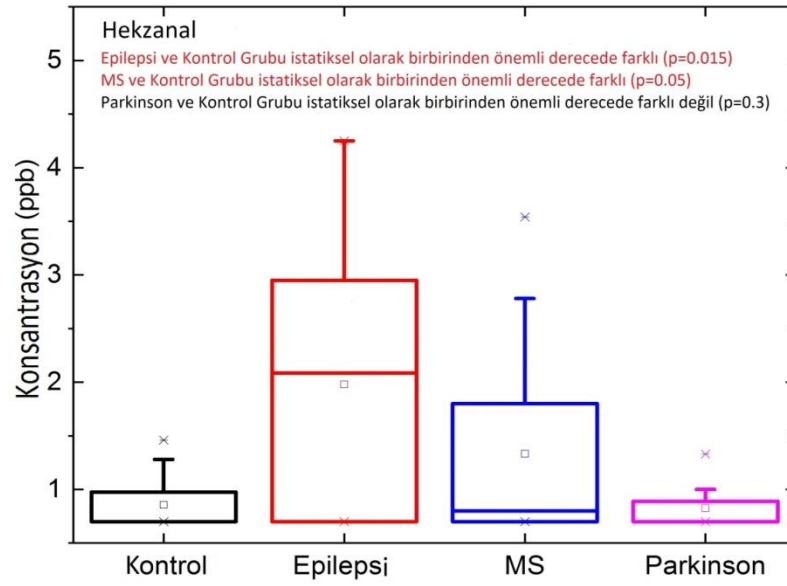
Parkinson hastalığının ana belirtileri yürümenin ve hareketlerin yavaşlaması, tutuklaşması, hareketleri başlatmakta ve ince işlerde güçlük, yüzde donuklaşma, kas sertliği, istirahat halindeyken el ve bacak titremesi, duruş denge ve reflekslerde bozulma, vücudun öne doğru eğilmesi şeklindedir (Emre, 2006).

Parkinson hastalığının en karakteristik özelliği beyin sapı denilen bölgede iki taraflı simetrik olarak yerleşmiş 'substansiya nigra' olarak nitelendirilen bir hücre grubunda dejenerasyon ve hücre kaybı oluşmasıdır. Parkinson hastalığının oluşması için en az %60 -70 hücrenin kaybolması gerekmektedir. Aslında hastalık belirtiler çıkmadan çok önce başlamaktadır (Emre, 2006). Dopamin, substansiya nigra olarak belirtilen alanda üretilen bir nörotransmitterdir. Hareketlerin başlatılmasından sorumludur. Bu bölgenin hasar görmesi ile beraber dopamin eksikliği oluşmakta ve hareketlerin başlamasında ve akıcı uyumlu bir şekilde yapılmasında zorluk meydana gelmektedir. Hastaların dopamin eksikliği ne kadar fazla ise hareketle ilgili sıkıntıları o kadar fazla olmaktadır. Yalnız titremenin fazlalığı ile dopaminin azalması ile ilgili doğrudan bir orantı yoktur. Parkinson hastalığı yavaş ilerleyen bir hastalıktır. Parkinson hastalığında da, lipid peroksidasyonun özellikle 'substansiya nigra' bölgesinde arttığına ve dejeneratif olarak bu bölgedeki hücrelerin ölümüne sebep olduğuna dair çalışmalar yapılmıştır (Dexter vd., 1989; Jenner, 1997; Mylonas ve Kouretas, 1998).

Çalışmamızda nedeni bilinmemekle beraber Parkinson hastaları ve kontrol grubu nefeslerindeki hekzanal molekül miktarı karşılaştırıldığında, anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Şekil 4.49). Parkinson hastaları ile yaş BMI arasında herhangi bir korelasyon bulunmamıştır (Şekil 4.48).



Şekil 4.48. Parkinson hastalarının nefeslerindeki hekzanal molekülü miktarı ile yaş BMI ilişkisi



Şekil 4.49. Epilepsi, MS ve Parkinson hastaları ile kontrol grubu nefes hekzanal konsantrasyonları

Nefes analizi sonucu olarak epilepsi hastalarının nefeslerinde hekzanal molekülü ortalama 1,88 ppb olmak üzere hastalarda minimum 0.7 ppb ve maksimum 4.25 değer aralığında çıkmıştır. MS hastalarının nefeslerinde hekzanal molekülü ortalama 1.4 ppb olmak üzere hastalarda minimum 0.7 ppb

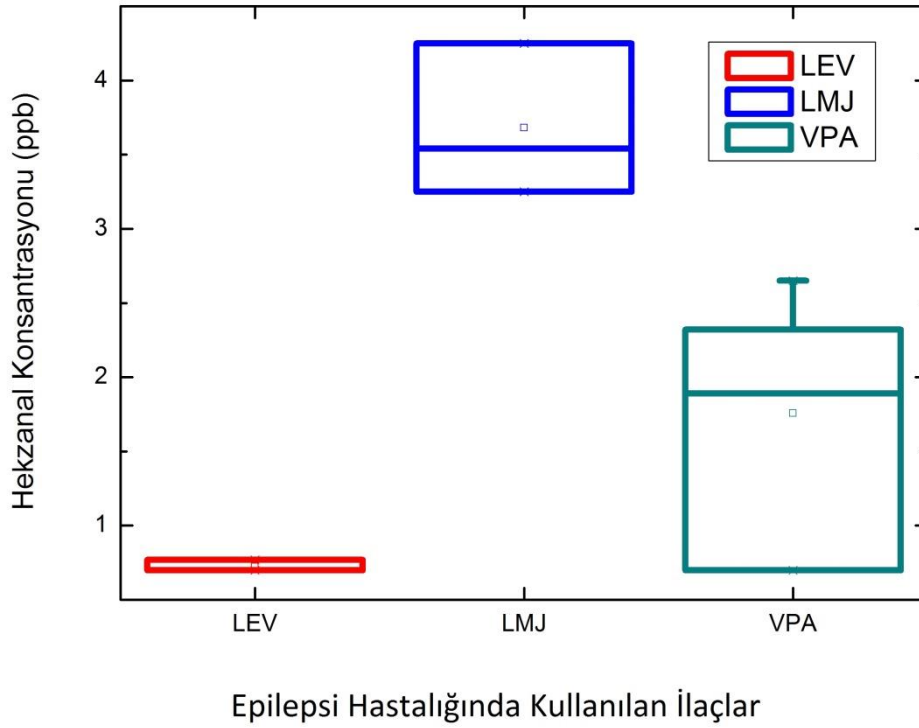
ve maksimum 3.54 ppb değer aralığında çıkmıştır. Parkinson hastalarının nefeslerinde ise heksanal molekülü ortalama 1.88 ppb olmak üzere hastalarda minimum 0.7 ppb ve maksimum 4.25 değer aralığında çıkmıştır. Kontrol grubunda ise, ortalama değer 0.88 ppb olup minimum 0.7 ve maksimum 1.46 değerindedir. Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında sağlıklı kişilerde 0.38 nmol/L (9.5 ppb) ile 2.32 nmol/L (58.4 ppb) (Kischkel vd., 2010) değer aralığında ve yapılan diğer çalışmada 7 pM (0.17 ppb) ile 13.8 pM (0.34 ppb) değer aralığında ortalama 10.3 pM (0.25 ppb) (Poli vd., 2010) olarak saptandığı görülmüştür.

Heksanal molekülü nefeste lipid peroksidasyon varlığında çıkan bir moleküldür. Bu çıkarımdan yola çıkararak nörolojik hastalıklar ile heksanal molekülü arasındaki ilişki incelenmiştir. Çalışmamızda epilepsi hastalarında, MS hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı farklar gözlenmiştir. Parkinson hastalarının nefeslerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunamamıştır. Nefes analizi metodunda bilinmeyen bir çok reaksiyon ve metabolizma bulunmaktadır. Kanda veya vücudun herhangi bir doku veya sıvısında yüksek oranda bulunan bir molekül nefeste direkt olarak ağa çıkmayabilir. Daha öncesinde yapılan çalışmalar, nörolojik hastalıklarda lipid peroksidasyonun arttığını belirtmişlerdir. Özellikle Epilepsi nöbetlerinde ve MS atakları sırasında lipid peroksidasyonun arttığı yönünde çalışmalar mevcuttur (Toshniwal vd., 1992; Deepa vd., 2008) Epileptik nöbet sırasında nörolojik metabolizma artış göstermesi ile beraber, lipid peroksidasyonda artış gözlenir. Epileptik nöbetlerin takibi için lipid peroksidasyonun belirleyici etmenlerinin takibi önemli olabilir.

4.4.3.4. Farklı ilaç kullanan epilepsi hastalarının nefes analizi

Çalışmamızda (Akman vd., 2017) etken maddesi VPA olan (Depakin, Convulex) ilaçlardan kullanan 6 hasta, etken maddesi levetirasetam (LEV) (keppra, epixx) olan ilaçlardan kullanan 3 hasta ve etken maddesi lamotrijin (LMJ) (lamictal) olan ilaçlardan kullanan 3 hastadan nefes örnekleri alınmıştır.

Farklı ilaç kullanan epilepsi hastalarının ve sağlıklı kontrol grubunun nefeslerindeki hekzanal konsantrasyonunu karşılaştırmak için bir kutu diyagramı kullanılmıştır (Şekil 4.50). VPA kullanan epilepsi hastalarında hekzanal molekül miktarı 0.7 ppb ile 2.65 ppb arasında değişen oranda ortalama 1.75 ppb olarak, LEV kullanan epilepsi hastalarında 0.7 ppb ile 0.77 ppb arasında değişen oranda ortalama 0.72 ppb olarak, LMJ kullanan epilepsi hastalarında 3.25 ppb ile 4.25 ppb arasında değişen oranda ortalama 3.68 ppb olarak, olarak bulunmuştur.



Şekil 4.50. VPA , LEV ve LMJ kullanan epilepsi hastalarının ve kontrol grubunun nefeslerinde bulunan hekzanal molekülü miktarları

VPA, LEV ve LMJ kullanan epilepsi hastalarının ve kontrol grubunun nefeslerinde bulunan hekzanal molekülü miktarları Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Nefes hekzanal konsantrasyonlarının minimum, maksimum ve ortalama değerleri

Nefes alınan grup	Min	Maks	Ortalama
VPA kullanan epilepsi hastaları	0.7 ppb	2.65 ppb	1.75 ppb
LEV kullanan epilepsi hastaları	0.7 ppb	0.77 ppb	0.72 ppb
LMJ kullanan epilepsi hastaları	3.25 ppb	4.25 ppb	3.68 ppb
Kontrol Grubu	0.7 ppb	1.46 ppb	0.78 ppn

VPA'nın etki mekanizması çok açık değildir. GABA transminaz üzerinde zayıf inhibasyon yapar. Na⁺ kanal blokleri olarak çalışarak, T tipi Ca²⁺ kanallarını inhibe eder ve K⁺ kanallarını açar. LMJ, VPA gibi Na⁺ kapılarını bloke eder, sık açılan sodyum kanallarının bu etkisi ile hücre zarının stabilizasyonunu artırdığı; glutamat ve aspartat gibi aktive edici nörotransmitterlerin salınımını inhibe ettiği düşünülmektedir (Lang vd., 1993). LEV'in etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, VPA ve LMJ den farklı olarak Na⁺ kapılarına etki etmez. Çalışmamız sonucunda LEV kullanan hastalarda hekzanal miktarı düşük, VPA ve LMJ kullanan hastalarda ise yüksek çıkmıştır. Hücre iyon kanallarına etki eden ilaçların lipid peroksidasyonu artırdığı düşünülebilir. LEV ilacının literatürde antioksidan etki gösterdiğine sonuçlar verilmiştir (Oliveira vd., 2016; Oliveira vd., 2007; Ueda vd., 2009; Varoglu vd., 2010). LEV kullanan hastalarda hekzanal miktarının düşük çıkması antioksidan etki gösterdiğini kanıtlayıcı şekildedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Nefes Analizi İçin Spektroskopik Teknikler

Bu tez çalışmasında, oda sıcaklığında ECL kullanan bir OA-CEAS ve bir genlik düzenleyiciye dayalı bir biyomedikal sensör geliştirilmiş ve nefes havası içindeki UOB'leri ölçme kabiliyeti gösterilmiştir. Bir yüksek güçlü, tek modlu, dar çizgi genişlikli, dalga boyu oldukça ayarlanabilir, bir TEC üzerinde bir kazanım çipi kullanan ECL gerçekleştirilmiştir. 6890 (1451 nm) ve 6170 cm^{-1} (1621 nm) arasında değişen 720 cm^{-1} gibi oldukça geniş bir ayarlama aralığı, ECL konfigürasyonunda bulunan optik kırınım ağının döndürülmesi suretiyle ulaşılmıştır. 1.85 cm^{-1} 'lik bir mod-atlamasız ayarlama aralığına dış kavite uzunluğu ve enjeksiyon akımını aynı anda ayarlamak suretiyle elde edilmiştir. Daha yüksek yer değiştirme imkanı sağlayan bir PZT veya daha büyük bir enjeksiyon akım kaynağı sistemin ince ayar aralığını artırabilir. ECL spektral bant genişliği için üst limit yaklaşık 140 kHz olarak bulunmuştur. Geliştirdiğimiz sensör, nefes içinde ppbv seviyelerinde konsantrasyonlara ve 1450-1620 nm spektral aralığında soğurma çizgilerine sahip her molekülü tespit edebilmektedir. Sensörün performansını değerlendirmek için amonyak molekülü analiz edilmiştir ve 256 ortalama alınarak, amonyak molekülünün 6528.76 cm^{-1} 'deki soğurma çizgisi kullanılarak, yaklaşık 1×10^{-8} cm^{-1} 'lik bir minimum algılanabilir soğurma katsayısı (α_{\min}) gösterilmiştir. Sistem ile 2 s'lik veri elde etme süresinde, 1.4 km soğurma yol uzunluğuna ulaşılmıştır. NEAS, minimum algılanabilir soğurma katsayısı ve algılama bant genişliği ile hesaplanmaktadır. Yaklaşık 135.2 Hz'lik bir algılama bant genişliği bulunmuştur ($\tau \sim 4.6 \mu\text{s}$, $f_{\text{kavite}} \sim 34.6$ kHz, 256-ortalama tarama).

Bu sonuçlardan, yaklaşık $8.6 \times 10^{-1} \text{ cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$ değerinde bir eşdeğer gürültü soğurma hassasiyeti elde edilmiştir. Çalışmamızın literatürde bulunan diğer çalışmalar ile karşılaştırılması Çizelge 5.1 de gösterilmiştir.

Çizelge 0.1. Çeşitli yayınlanmış lazer tabanlı amonyak molekülü tespit etme deneylerinin bazı parametreleri. (N)NEAS: (normalize) gürültü eşdeğer soğurma hassasiyeti, MDAC: minimum algılanabilir soğurma katsayısı, CEDCS: kavite destekli çift taraklı spektroskopi, QCL: kuantum kaskat lazeri, DFB DL: dağıtılmış geri besleme diyot lazeri, MLFL: mod kilitli fiber lazer, OFCS: optik frekans tarama spektrometresi.

YÖNTEMLER	(N)NEAS, MDAC	DALGA BOYU (MM)	REFERANSLAR
CEDCS	$1.0 \times 10^{-10} \text{cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$	1	(Bernhardt vd., 2010)
ECL + OA CEAS	$8.6 \times 10^{-10} \text{cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$	1.53	Bu çalışma
DFB QCL + CRDS	$3.4 \times 10^{-9} \text{cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$	8.5	(Paldus vd., 2000)
DFB QCL + WMS	$2.0 \times 10^{-7} \text{cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$	9	(Weidmann vd., 2004)
DFB DL + QEPAS	$7.2 \times 10^{-9} \text{cm}^{-1} \text{ WHz}^{-1/2}$	1.53	(Kosterev ve Tittel 2004)
DFB DL + QEPAS	$8.9 \times 10^{-9} \text{cm}^{-1} \text{ WHz}^{-1/2}$	2	(Lewicki vd., 2007)
MLFL + OFCS	$8.0 \times 10^{-10} \text{m}^{-1}$	1.5	(Thorpe vd., 2008)
CO ₂ Lazer + PAS	$9.6 \times 10^{-10} \text{m}^{-1}$	10	(Pushkarsky vd., 2003)

Bernhard vd., 2010 yılında yaptıkları çalışmada kavite destekli çift taramalı spektroskopiye 1 μm 'de kullanarak NEAS değerini $1.0 \times 10^{-10} \text{cm}^{-1} \text{ Hz}^{-1/2}$ bulmuştur. Bu bizim çalışmamızın sekiz katı kadar iyi bir sonuçtur. Ancak bu kurulum bizim kurulumumuzdan daha karmaşık ve maliyetlidir. Yine de belirtmelidir ki, farklı yazarlar tarafından kullanılan farklı performans değerlendirme ölçütleri nedeniyle spektroskopik enstrümanlar arasında karşılaştırma yapmak zor olmaktadır (Moyer vd., 2008).

Kızılötesi lazer soğurma spektrometresi gazların analizi ve ölçümünde önemli bir araçtır. Farklı gazlara göre ölçümler milyonda bir veya trilyonda bir aralığında yapılabilmektedir. Spektral bölgede soğurma bandı 3 ile 24 μm arasında değişmektedir. Bu alanda ayarlanabilir lazer kaynakları ile başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir.

Günümüzde invazif teknikler hastalara ciddi rahatsızlık vererek biyopsileri tespit etmek için kullanılır. Bu nedenle tanı amaçlı girişimsel olmayan tekniklerin geliştirilmesi yönünde bir eğilim vardır. Ayrıca özel bir eğitim gerektirmeyen bu teknik hasta başı kullanımı için gereklidir. Girişimsel olmayan nefes analiz tekniği, özellikle de lazer temelli metot, bu amaç için iyi bir adaydır.

Nefes testlerinin uzun tarihine rağmen, nefes analizinin hastanelerdeki rutin klinik kullanımına ilişkin ele alınması gereken birçok konu vardır. Oda sıcaklığında çalışan ve kullanımı kolay, oldukça hassas ve seçici, taşınabilir, ufak, gerçek zamanlı ve üretimi ve bakımı masraflı olmayan cihazlar geliştirmek oldukça önemlidir. Bu aletler günümüzde geliştirilme aşamasındadır.

Mevcut teknolojinin hastane ortamında ticari açıdan ilgi görme potansiyeli sistemimizin küçültülmesi ile arttırılabilir. Bu nedenle Daylight Solution'dan ECL'ler gibi ufak optik bileşenler kullanılabilir. Hepsi bir arada bir lazer kontrol cihazı (Moglabs'dan MOGbox DLC202), daha kompakt bir kurulum için kullanılabilir. Bunun gibi bir kontrol cihazı, ultra düşük gürültü akımı sürücü, sıcaklık kontrol cihazı, rampa jeneratörü, piezosürücü, modülatör, demodülatör (kilitleyici yükseltici), servo geri bildirim sistemi ve fotodedektör içermektedir. Daha ufak fiziksel uzunluktaki CEAS soğurma hücresi, tanı limitini telafi etmek için daha büyük çaptaki aynalar kullanılarak tasarlanabilir. Bu daha büyük hücre uzunluğu ile başarılabılır. Sistemin boyutunu daha da azaltmak için PAS hücresi alternatif olarak kullanılabilir.

Gaz kromatografisi kütle spektrometresi, proton transfer reaksiyon kütle spektrometresi gibi tanı metotları hastanelerdeki pratik uygulama için ideal değildir. Bu tanı metotları pahalı, büyük, kompleks ve zaman alıcıdır ve örnek toplama ve numunenin ön hazırlığı için karmaşık prosedürleri gerektirir. OA-CEAS, PAS, CRDS ve çok geçişli hücre soğurma metodu gibi lazer destekli optik teknikler daha ufaktık ve numunenin ön hazırlanmasını gerektirmeden gerçek zamanlı analizler ortaya koyabilir.

Piyasada ticari olarak temin edilebilen PAS ve CRDS sensörleri bulunmaktadır. PAS sensörleri mekanik, akustik titreşime karşı oldukça hassastır ve ufak boyutları bu sensörlerin temel avantajıdır. CRDS metodu yüksek hızlı elektronik cihazları gerektirir. Bu çalışmada kullanılan OA-CEAS tekniğinin diğer lazer tekniklerine oranla birçok avantajı bulunmaktadır. Bu teknik, basınç ve sıcaklıkta titreşimlere ve dalgalanmalara duyarlı değildir. Aktif kilitleme ve yüksek hızlı elektroniklere gerek yoktur ve hizalama daha kolaydır. Bu avantajları OA-CEAS cihazını laboratuvar ortamı dışındaki ölçümler için daha uygun kılar. Bu çalışmada diğer ticari amonyak sensörlerine oranla daha ucuz lazer kaynakları ve elektronikler kullanılmıştır. Ayrıca kullandığımız sistem nefesteki UOB'leri 700 nm ile 1620 nm gibi daha geniş bir spektral aralıkta analiz edebilir ve bu da sistemin avantajları arasında yer alır.

Lazer Frekansının Kararlılaştırılması

ECL ile elde edilen lazer doğrusal olmayan bir sistem olmasına karşın, belirli bir sürede elde edilen veriler (doğru akım sistemin girişi, lazer sinyali çıkışı olarak) alınmış ve sistem doğrusal kabul edilmiştir. Bu verilere göre transfer fonksiyonu kullanılmıştır. Lazer ışığında 1/f gürültüsü baskındır. Çalışmamızda MATLAB-Simulink programında pidtool'ın 1/f gürültüsünü çözememesinden dolayı beyaz gürültü (White noise) eklenmiştir. Gürültünün eklenmesinden sonra, sistemin kararlılaştırılması sağlanmıştır.

Deneyel ortamda lazer spektroskopi tekniklerinde PID kontrol sistemleri kullanılabilmekte ve lazer frekans kararlılığını sağlamaktadır. Sistem çevre gürültülerinin anlık değişimleri sebebi ile doğrusal değildir.

OUAS Hastalarının Nefes Analizi

OUAS hastalarında, uyku sonrası molekül miktarları, uyku öncesi seviyelerle ve sağlıklı kontrol grubunda olanlar ile kıyaslanmıştır. Nefesle dışarı verilen aseton ve bütanol molekül miktarları, TD-GC/MS kullanılarak belirlenirken, nefesle dışarı verilen karbondioksit konsantrasyonları, OA-CEAS kullanılarak

ölçülmüştür. Nefes analizleri sonucunda nefesle dışarı verilen aseton ve karbondioksit seviyelerinde anlamlı değişiklikler gözlemlenmemiştir. Nefes analizi ile uyku öncesi ve sonrasına bakıldığında bütanolün konsantrasyonunun arttığı görülmüştür. Bu sonuç, gelecekte OUAS'ın girişimsel olmayan tanısı için bütanol molekülünün, potansiyel bir biyoişaret olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Şimdiye kadar elde edilen OUAS çalışmalarının sonuçları klinik uygulamalara dönüştürülmesi için henüz yeterli değildir. Sadece birkaç çalışma uykudan önce ve sonra nefesle dışarı verilen biyoişaretleri araştırmıştır (Kunos vd., 2015; Olopade vd., 1997; Foresi vd., 2007). Bir taraftan, Olopade vd. (1997), uyku öncesi ve sonrası nefesle dışarı verilen pentan ve nitrik oksit seviyelerinin, OUAS'lı hastaların uyku öncesi değerlerinden önemli derecede fazla olduğunu gözlemlemiştir. Diğer taraftan, Foresi vd. (2007), OUAS hastalarında alveoler nitrik oksit konsantrasyonlarının, kontrol grubundaki bireylerden önemli ölçüde daha az olduğunu bulmuştur. Nefeste açığa çıkan 8-isoprostanın uyku sonrasında artan seviyeleri de rapor edilmiştir (Carpagnano vd., 2003). Yeni yapılan bir çalışmada, elektronik burun kullanılarak OUAS hastalarının nefeslerindeki UOB örneklerinin akşam ve sabah değişiklikleri gösterilmiştir (Kunos vd., 2015). Kütle, şekil ve gaz maddelerin iyon hareketliliğine bağlı olarak, elektronik burunlar, benzer UOB profillerini gösterip göstermediklerini gözlemlemek için örnekleri karşılaştırmak adına kullanılabilirler. Lakin OA-CEAS ve GC/MS karşılaştırılınca elektronik burunların en büyük dezavantajı, bireysel bileşikleri belirlemek ve ölçmek için yetersiz olmalarıdır.

OUAS hastalarında kardiyovasküler hastalıkların artan riski, glikoz metabolizması ve insülin direnci bozuklukları ile ilişkili olabilir. Fakat bu ilişkiye aracılık eden mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. Kronik aralıklı hipoksi (CIH), proinflamatuvar sitokin üretimi, endotel disfonksiyonu, oksidatif stres, metabolik düzensizlik ve insülin direnci artışına yol açabilir. (Çiftci vd., 2004; Ryan vd., 2005; Christou vd., 2003). Ayrıca, hipoksi insülin reseptör aktivasyonunu inhibe edebilir ve sempatik aktivasyon glikojenoliz ve glukoneogenez içererek insülin direncine neden olduğunda, çevresel insülin

direncini destekleyen enflamatuar sitokinlerin oluşumunu tetikler (Lindberg vd., 2012). Reaktif oksijen türlerinin üretimi redoks-duyarlı transkripsiyon faktörlerini aktif hale getirebilir, bu nedenle insülin direnci gelişiminde önemli bir rol oynayan tümör nekroz faktörü- α 'nın artan üretim salıvermesiyle sonuçlanmaktadır (Braun vd., 2001; Ryan vd., 2005; Uysal vd., 1997). Buna ek olarak, sürekli hipoksiye maruz kalmak, anaerobik glikoliz için bir anahtar içeren hücre metabolizmasında çoklu değişikliklere yol açmaktadır. Adipositlerde (depo yağ hücreleri) sürekli hipoksi glikoz taşıyıcı GLUT-1'in, glukoz alımının ve laktat bırakımının ifadesini artırmıştır fakat insüline bağımlı glikoz taşıyıcısı GLUT-4'ün ifadesini azaltmıştır (Wood vd., 2007; Wang vd., 2008). CIH'in de aynı zamanda, obeziteye neden olan faktörlerinin yokluğunda karaciğer hasarına neden olabilen hepatik lipid peroksidasyonuna neden olduğu bulunmuştur. Çalışmalarda ayrıca, OUAS ile ilişkili kronik hipoksik koşullar altında yüksek yağ diyeti kombinasyonunun, alkolsüz yağlı karaciğer hastalığını destekleyebileceğini belirtmişlerdir.

İnsülin direnci sebebiyle oluşan hiperglisemi ve asetil-CoA karboksilaz 1 ve 2'nin artan ekspresyonu, OUAS hastalarının kanında ve belki de nefesinde aseton bulunmasının temel nedeni olabilir.

Bildiğimiz kadarıyla, bu çalışmanın sonuçları, uyku öncesi seviyeye ve sağlıklı bireylere kıyasla, OUAS'lı hastaların artan bir nefes bütanol konsantrasyonuna sahip olduğuna dair ilk gösterimi sunmaktadır. Bu potansiyel nefes molekülü, OUAS'ın uygun ve noninvazif bir tanısı için kullanılabilir, OUAS'a ait önemli bir biyoişaret olabilir. OUAS fizyopatolojisinin daha iyi anlaşılması ve klinik uygulama öncesi bu sonuçları yeterince doğrulamak için için bu alanda gelecekteki çalışmalara açıkça ihtiyaç vardır. Proteomik, genomik, metabolomik, nefes analizi uzmanları ve klinisyenler arasında bir işbirliği, hastalıklar ve nefes içerisindeki biyoişaretler arasındaki bağlantılara ait bilgilerimizi artırmak için önemli bir katkı sağlamak adına gereklidir.

Nörolojik Hastalıklarda Nefes Analizi

VPA Kullanan Epilepsi Hastalarının Nefeslerinin OA-CEAS Yöntemi ile Analizi

Yürüttüğümüz çalışmada VPA kullanan epilepsi hastalarının nefeslerinde bulunan amonyak miktarı incelenmiştir. Hiperamonyemi, VPA tedavisinin bilinen bir yan etkisidir ve görülme sıklığı %16.2-100 arasında olduğu (Eryılmaz vd., 2014) açıklanmıştır. Yani ilaç vücutta direk amonyak miktarını artırmamakla birlikte, uzun dönemde kanda bulunan amonyak miktarının yüksek olmasına sebep olmaktadır. İlaç kullanımının planlanması için nefes analizinin hastalarda uygulanabilirliği araştırılmıştır. Hasta ilaç almadan önce ve ilacı aldıktan 2 saat sonra hastaların nefesleri analiz edilmiştir.

Nefesteki amonyak seviyeleri ECL tabanlı OA-CEAS kullanılarak ölçülmüştür. Sağlıklı katılımcıların nefeslerindeki amonyak seviyeleri 120 ile 530 ppb arasında bulunmuştur. VPA'in nefesteki amonyak seviyesini arttırdığı görülmüştür. VPA alımı öncesi 250 ile 1090 ppb arasında, ortalama 636 ppb olarak ve VPA alımı sonrası 450 ile 1477 ppb arasında ortalama 989 ppb olarak bulunmuştur. Sağlıklı katılımcıların ($p < 0.05$) ve epilepsi hastalarının VPA öncesi ve sonrası nefesleri NH_3 konsantrasyonu bakımından kıyaslandığında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik saptanmıştır ($p < 0.05$). Fakat, nefesteki amonyak seviyeleri ve kan VPA konsantrasyonları ($r = 0.25$, $p = 0.29$) arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Bu çalışmada kullanılan noninvazif teknik epilepsi hastalarının sağlık durumlarına ilişkin hızlı, rutin tanı ve sürekli kontrol sağlayabilir. Yalnız çalışmanın daha çok kişi üzerinde yapılarak derinleştirilmesi gerekmektedir.

Çalışmalarda kan ve nefes örnekleri aynı anda alınarak incelenmiştir. Nefes ve kanda bulunan amonyak molekülünün aynı anda artmadığı görülmüştür. Nefes amonyak değerleri ile kan değerleri ile aynı anda yükselmeyebilir. Kan dolaşımından sonra nefeste açığa çıkan moleküller arasındaki metabolizmaların bir çok kısmı henüz bilinmemektedir. İlaç alımından sonra nefes örnekleri farklı

zamanlarda alınarak kan değerleri ile arasında doğru orantı bulunması için çalışmalar yapılarak genişletilebilir. Nefeste bulunan amonyak miktarının kandaki miktarını direk vermesi ile hastalar kendi öz kontrollerini yapabilecek şekilde tasarımlar yapılabilir. Elde ettiğimiz sonuçlar umut vaat etmektedir.

Hekzanal molekülü ile nörolojik hastalıklar arasında ilişki

Çalışmamızda hekzanal molekülü sağlıklı kontrol grubuna göre, epilepsi ve MS hastalarında anlamlı derecede yüksek çıkmıştır. Parkinson hastaları ile sağlıklı kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark görülmemiştir (Epilepsi $p=0.015$ MS $p=0.05$ Parkinson $p=0.3$). Epilepsi hastalarının nefeslerinde hekzanal molekülü ortalama 1,88 ppb olmak üzere hastalarda minimum 0.7 ppb ve maksimum 4.25 değer aralığında çıkmıştır. MS hastalarının nefeslerinde hekzanal molekülü ortalama 1.4 ppb olmak üzere hastalarda minimum 0.7 ppb ve maksimum 3.54 ppb değer aralığında çıkmıştır. Parkinson hastalarının nefeslerinde ise hekzanal molekülü ortalama 1.88 ppb olmak üzere hastalarda minimum 0.7 ppb ve maksimum 4.25 değer aralığında çıkmıştır. Kontrol grubunda ise, ortalama değer 0.88 ppb olup minimum 0.7 ve maksimum 1.46 değerindedir.

Hekzanal molekülü nefeste lipid peroksidasyon varlığında çıkan bir moleküldür. Bu çıkarımdan yola çıkarak nörolojik hastalıklar ile hekzanal molekülü arasındaki ilişki incelenmiştir. Nefes analizi metodunda bilinmeyen birçok reaksiyon ve metabolizma bulunmaktadır. Kanda veya vücudun herhangi bir doku veya sıvısında yüksek oranda bulunan bir molekül nefeste doğru orantılı olarak çıkmayabilir. Solunum veya farklı fizyolojik etmenler molekül konsantrasyonunu değiştirebilir veya nefeste ortaya çıkma süresini değiştirebilir. Metabolizmalar arası ilişkilerin aydınlatılması için çok sayıda çalışma yapılmalıdır. Daha öncesinde yapılan çalışmalar, nörolojik hastalıklarda lipid peroksidasyonun arttığını belirtmişlerdir. Epileptik nöbet sırasında nöro metabolik aktivite artar, bu artış nöronal membranların kararsızlığına yol açarak, lipid peroksidasyonun ve nöronal hasarın artmasına neden olmaktadır. Nöbetlerin kontrolü için serbest oksijen radikali oluşumundaki artıştan

kaynaklanan membran lipid peroksidasyonunun önemli olduğu belirlenmiştir (Deepa vd., 2008).

MS ataklarının anlaşılması sırasında nefeste hekzanal miktarının kontrolü anlamlı bir çalışma olabilir ve ataklara anında müdahale yapılmasını sağlayabilir. MS atakları mevcut durumda MR ile teşhis edilmektedir. MR için hastaların bekletilmesi sırasında atak durumu hastalara zarar verebilmektedir. Nefes analizi metodunun bu alanda çalışılması anlamlı olabilir. MS atakları sırasında lipid peroksidasyonun arttığı yönünde çalışmalar yapılmıştır (Toshniwal vd., 1992). Çalışmamızda hekzanal molekülü MS hastalığında teşhis amaçlı kullanılabilceğine dair bir ön çalışma yapılmıştır. Çalışmamız ile Ionescu vd., (2011) yaptıkları çalışma sonuçları örtüşmektedir. Bu çalışmada karbon nano tüpleri kullanılmış ve nefeste açığa çıkan hekzanal molekülünün MS hastalığının teşhisinde kullanılabilceğini belirtilmiştir.

Hastalıkların nefes ile teşhis edilebilmesi, ileriye dönük büyük kolaylıklar sağlayacağı öngörülmektedir. Örneğin, MS hastalığının teşhis sürecinde hastalara acı verici ve korkutucu olmaktadır. MS hastalığının ilk teşhis edilmesinde, beyin omurilik sıvısı (BOS) yaklaşık 8-10 cm uzunluğunda bir iğne ile girilerek invaziv bir şekilde alınmaktadır. MS'li hastalarda BOS'un santral sinir sistemi (SSS) içinde sentez edilen immünglobülinleri içerdiği bilinmektedir. Hastalığın nefesten teşhisi sağlanması halinde hasta ve doktorlar için risk içermeyecek, acısız, kolay bir metot sunulmuş olacaktır. Parkinson ve Alzheimer Hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıkların oluşumundaki rol alan ana mekanizmalar, oksidatif stres, mitokondriyal disfonksiyon ve inflamasyondur (Kangalgil ve Canbolat 2016).

Nefes analizi yöntemi ilaçların metabolizmasının araştırılması ve planlanmasında kullanılabilir. Nörolojik hastalıklarda lipit peroksidasyonun daha derinlemesine incelenmesi için lipit peroksidasyonun artışı ile artan moleküllerin (örn. incelenmesi ve analiz sayısının artırılması) çalışmalara daha fazla yön verebilecektir.

Çalışmamızda, Parkinson hastalarında lipit peroksidasyonun, sağlıklı kişilere göre yüksek olduğu bilinmesine rağmen, Parkinson hastaları ve kontrol grubu nefeslerindeki hekzanal molekül miktarı arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Lipit peroksidasyon ile açığa çıkan diğer moleküllerin araştırılması Parkinson hastalarında lipit peroksidasyonun metabolizması ile ilgili daha fazla bilgi verebilir.

Nefes analizi yöntemi ile hastalıkların araştırılmasında bilinmeyen bir çok veri aydınlatılabilir. Bunun için geniş spektrumlu çalışmalara ihtiyaç vardır. Elde edilen veriler hastalık teşhisinde kullanılabileceği gibi, tedavi süreci için de bilgi sağlayabilir. İlaçların etkilerinin nefes analizi ile araştırılması ile, ilaç kullanımının planlanması, yan etkileri ve faydaları konusunda bilinmeyen bir çok alan da aydınlatılabilir.

Farklı ilaç kullanan epilepsi hastalarının nefes analizi

VPA kullanan epilepsi hastalarında hekzanal molekül miktarı 0.7 ppb ile 2.65 ppb arasında değişen oranda ortalama 1.75 ppb olarak, LEV kullanan epilepsi hastalarında 0.7 ppb ile 0.77 ppb arasında değişen oranda ortalama 0.72 ppb olarak, LMJ kullanan epilepsi hastalarında 3.25 ppb ile 4.25 ppb arasında değişen oranda ortalama 3.68 ppb olarak, olarak bulunmuştur.

Nefes analizi ile, LEV kullanan hastaların nefesinde hekzanal molekülü çok düşük oranda çıkmıştır. Bunun LEV'in sağladığı antioksidan etkiden kaynaklandığı düşünülebilir. VPA içeren ilaçların lipid peroksidasyonu artırdığı yönünde çalışmalar mevcuttur (Martinez-Ballesteros vd., 2003). Yiş (2008)'in yaptığı çalışmada VPA tedavisi alan hastalarda tedavi öncesi gruba göre lipid peroksidasyonunun arttığını ama kontrol grubu ile aralarında anlamlı fark olmadığını bulmuştur. VPA tedavisi alan hastalar ile kontrol grubu arasında lipid peroksidasyonu açısından fark olmamasının, lipid peroksidasyonun kabul edilebilir sınırlar içinde olduğunu gösterdiğini belirtmiştir (Yiş, 2008). Lipid peroksidasyon göstergesi olarak kabul ettiğimiz hekzanal molekülü VPA kullanan hastaların nefeslerinde yüksek oranda çıkmıştır. Çalışmamızda VPA kullanan hastalarda kontrol grubuna göre hekzanalın yüksek oranda çıkması,

VPA'nın lipid peroksidasyonu artırması görüşünü desteklemektedir. Epilepsi ilaçları kullanan hastaların nefeslerine bakıldığında en yüksek hekzanal molekülü miktarı LMJ kullanan hastalarda görülmüştür. Literatüre bakıldığında LMJ'nin lipid peroksidasyon ve oksidatif stres üzerindeki etkileri konusundaki çalışmalar farklıdır. LMJ'nin oksidatif strese bir etkisinin olmadığını belirten (Arora vd., 2010; Agarwal vd., 2011), çalışmaların yanında, hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda LMJ'nin antioksidan etki gösterebileceğini (Kamal 2013; Eren vd., 2007) ve LMJ'nin oksidatif stresi artırabileceğine dair (Abelaira vd., 2013) Stettner vd. (2011) çalışmalar sunulmuştur. Çalışmamızda hekzanalın yüksek oranda çıkması LMJ nin oksidatif stresi artırabileceği yönündeki görüşleri destekler niteliktedir. LEV'in anti epileptik bir ilaç olmasının yanında bir histon deasetilaz inhibitörü olarak görev yapabileceğini ve bu ilacın hem anti inflamatuvar hem de anti oksidatif etkiler sergilediğini ve periferik sinirdeki oksidatif stres ve iltihaplanmanın tedavisinde potansiyel olarak yararlı olabileceği belirtilmiştir (Stettner vd., 2011). LEV'in antioksidan olarak koruyucu olması bir çok çalışmada gösterilmiştir (Oliveira vd., 2016; Oliveira vd., 2007; Ueda vd., 2009; Varoglu vd., 2010). Çalışmamızda da LEV kullanan hastalarda hekzanal miktarının düşük çıkması LEV'in antioksidan koruyuculuğunu destekler niteliktedir. Yalnız şu da belirtilmelidir, nefeste hekzanal molekülünün açığa çıkması için farklı metabolizmaların gelişmiş olabileceği de düşünülmelidir.

KAYNAKLAR

- Abelaira, Helena M., Gislaine Z. Réus, Karine F. Ribeiro, Amanda V. Steckert, Francielle Mina, Daniela VF Rosa, Cíntia V. Santana, Marco Aurélio Romano-Silva, Felipe Dal-Pizzol ve João Quevedo, 2013. Effects of lamotrigine on behavior, oxidative parameters and signaling cascades in rats exposed to the chronic mild stress model, *Neuroscience research* 75 (4): 324–30.
- Ackermann, Uwe. 2002. PDQ physiology. PMPH-USA.
- Agarwal, Nidhi Bharal, Nitin Kumar Agarwal, Pramod Kumari Mediratta ve Krishna Kishore Sharma, 2011. Effect of lamotrigine, oxcarbazepine and topiramate on cognitive functions and oxidative stress in PTZ-kindled mice, *Seizure* 20 (3): 257–62.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya 1.
- Akman, H. Bayraklı, I., Kutluhan S., 2017. Investigation of correlation between neurological diseases and breath moleküll. *Journal of Breath Research* (Submitted)
- Alves, Eduardo S, Fabio S Lira, Ronaldo VT Santos, Sergio Tufik ve Marco T de Mello, 2011. Obesity, diabetes and OSAS induce of sleep disorders: exercise as therapy, *Lipids in health and disease* 10 (1): 1.
- Amann, Anton, Guy Poupart, Stefan Telser, Maximilian Ledochowski, Alex Schmid ve Sergei Mechtcheriakov, 2004. Applications of breath gas analysis in medicine, *International Journal of Mass Spectrometry* 239 (2): 227–33.
- American Academy of Sleep Medicine Task Force, 1999. Sleep related breathing disorders in adults: Recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research, *Sleep*, sayı 22: 667–689.
- Anderson, Dana Z, Josef C Frisch ve Carl S Masser, 1984. Mirror reflectometer based on optical cavity decay time, *Applied optics* 23 (8): 1238–45.
- Arnardottir, Erna S, Mirosław Mackiewicz, Thorarinn Gislason, Karen L Teff ve Allan I Pack, 2009. Molecular signatures of obstructive sleep apnea in adults: a review and perspective, *Sleep* 32 (4): 447–70.

- Arora, Tarun, Ashish K Mehta, Krishna K Sharma, Pramod K Mediratta, Basu D Banerjee, Gobind R Garg ve Amit K Sharma, 2010. Effect of carbamazepine and lamotrigine on cognitive function and oxidative stress in brain during chemical epileptogenesis in rats, *Basic & clinical pharmacology & toxicology* 106 (5): 372-77.
- Arpat, Özlem Araal, 2006. Valproik asit ve karbamazepin monoterapisi alan erkek hastalarda serum seks hormon düzeylerinin sağlıklı bireylerle karşılaştırılması, Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Nöroloji Kliniği.
- Arshak, K., E. Moore, G. M. Lyons, J. Harris ve S. Clifford, 2004. A review of gas sensors employed in electronic nose applications, *Sensor review* 24 (2): 181-198.
- Aydın, Hamdullah ve Kemal Aydınalp, 1986. Uykuda fizyoloji, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 6 (4): 365-68.
- Baer, Douglas S, Joshua B Paul, Manish Gupta ve Anthony O'Keefe, 2002. Sensitive absorption measurements in the near-infrared region using off-axis integrated cavity output spectroscopy, *İçinde* , 167-76. International Society for Optics and Photonics.
- Bakhirkin, Yury A, Anatoliy A Kosterev, Chad Roller, Robert F Curl ve Frank K Tittel, 2004. Mid-infrared quantum cascade laser based off-axis integrated cavity output spectroscopy for biogenic nitric oxide detection, *Applied optics* 43 (11): 2257-66.
- Baron, M, AP Kudin ve WS Kunz, 2007. Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disorders, *Biochemical Society Transactions* 35 (5): 1228-31.
- Bartalini, S, S Borri, P Cancio, A Castrillo, I Galli, G Giusfredi, D Mazzotti, L Gianfrani ve P De Natale, 2010. Observing the intrinsic linewidth of a quantum-cascade laser: beyond the Schawlow-Townes limit, *Physical review letters* 104 (8): 083904.
- Bauer, Tilman M, Henning Schwacha, Bernhard Steinbrückner, Folke E Brinkmann, Anette K Ditzen, Manfred Kist ve Hubert E Blum, 2000. Diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in patients with cirrhosis of the liver: poor performance of the glucose breath hydrogen test, *Journal of hepatology* 33 (3): 382-86.
- Bayraklı, İ., Öztürk, Ö., Akman, H. (2016a). Investigation of acetone, butanol, and carbon dioxide as new breath biomarkers for convenient and non-invasive diagnosis of obstructive sleep apnea syndrome. *Biomedical Chromatography*, 30(12), 1890-1899 (2016).

- Bayraklı, İ., Türkmen, A., Akman, H., Sezer, M. T., Kutluhan, S. (2016b). Applications of external cavity diode laser-based technique to noninvasive clinical diagnosis using expired breath ammonia analysis: chronic kidney disease, epilepsy. *Journal of Biomedical Optics*, 21(8), 087004-8 (2016).
- Bayraklı, İ., Akman, H. (2015). Ultrasensitive, real-time analysis of biomarkers in breath using tunable external cavity laser and off-axis cavity-enhanced absorption spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, 20(3), 037001-8 (2015).
- Berden, G., ve Engeln, R. (Eds.). (2009). *Cavity ring-down spectroscopy: techniques and applications*. John Wiley & Sons.
- Benedek, Pálma, Zsófia Lázár, András Bikov, László Kunos, Gábor Katona ve Ildikó Horváth, 2013. Exhaled biomarker pattern is altered in children with obstructive sleep apnoea syndrome, *International journal of pediatric otorhinolaryngology* 77 (8): 1244–47.
- Bernhardt, Birgitta, Akira Ozawa, Patrick Jacquet, Marion Jacquy, Yohei Kobayashi, Thomas Udem, Ronald Holzwarth, Guy Guelachvili, Theodor W Hänsch ve Nathalie Picqué, 2010. Cavity-enhanced dual-comb spectroscopy, *Nature Photonics* 4 (1): 55–57.
- Besler, Halit Tanju, Selçuk Çomoğlu ve Zeki Okçu, 2013. Serum levels of antioxidant vitamins and lipid peroxidation in multiple sclerosis, *Nutritional neuroscience*.
- Bessa, Vasiliki, Eleni Tseliou, Petros Bakakos ve Stelios Loukides, 2008. Noninvasive evaluation of airway inflammation in asthmatic patients who smoke: implications for application in clinical practice, *Annals of Allergy, Asthma & Immunology* 101 (3): 226–32.
- Bikov, Andras, James H Hull ve Laszlo Kunos, 2016. Exhaled breath analysis, a simple tool to study the pathophysiology of obstructive sleep apnoea, *Sleep medicine reviews* 27: 1–8.
- Bikov, Andras, Koralia Paschalaki, Ron Logan-Sinclair, Ildiko Horváth, Sergei A Kharitonov, Peter J Barnes, Omar S Usmani ve Paolo Paredi, 2013. Standardised exhaled breath collection for the measurement of exhaled volatile organic compounds by proton transfer reaction mass spectrometry, *BMC pulmonary medicine* 13 (1): 43.
- Biton, Victor, 2003. Effect of antiepileptic drugs on bodyweight, *CNS drugs* 17 (11): 781–91.
- Botros, Nader, John Concato, Vahid Mohsenin, Bernardo Selim, Kervin Doctor ve Henry Klar Yaggi, 2009. Obstructive sleep apnea as a risk factor for type 2 diabetes, *The American journal of medicine* 122 (12): 1122–27.

- Burtis, C. A. ve E. R. Ashwood, 1999. Tietz textbook of clinical chemistry.
- Buszewski, Bogusław, Martyna Kęsy, Tomasz Ligor ve Anton Amann, 2007. Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases, *Biomedical chromatography* 21 (6): 553–66.
- Cao, Wenqing ve Yixiang Duan, 2007. Current status of methods and techniques for breath analysis, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 37 (1): 3–13.
- Carpagnano, Giovanna E, Sergei A Kharitonov, Onofrio Resta, Maria P Foschino-Barbaro, Enzo Gramiccioni ve Peter J Barnes, 2002. Increased 8-isoprostane and interleukin-6 in breath condensate of obstructive sleep apnea patients, *CHEST Journal* 122 (4): 1162–67.
- Carpagnano, G. E., Kharitonov, S. A., Resta, O., Foschino-Barbaro, M. P., Gramiccioni, E., & Barnes, P. J, 2003. 8-Isoprostane, a marker of oxidative stress, is increased in exhaled breath condensate of patients with obstructive sleep apnea after night and is reduced by continuous positive airway pressure therapy, *Chest* 124 (4): 1386–92.
- Carr, Russell B ve Kerrie Shrewsbury, 2007. Hyperammonemia due to valproic acid in the psychiatric setting, *American Journal of Psychiatry* 164 (7): 1020–27.
- Cernat, R, C Matei, AM Bratu, C Popa, DCA Dutu, M Patachia, M Petrus, S Banita ve DC Dumitras, 2010. Laser photoacoustic spectroscopy method for measurements of trace gas concentration from human breath, *Romanian Reports in Physics* 62 (3): 610–16.
- Cintra, Fatima, Sergio Tufik, Vânia D’Almeida, Bruno FA Calegare, Angelo de Paola, Wercules Oliveira, Camila Rizzi, Suely Roizenblatt ve Dalva Poyares, 2011. Cysteine: a potential biomarker for obstructive sleep apnea, *CHEST Journal* 139 (2): 246–52.
- Connes, Pierre, 1958. L’étalon de Fabry-Perot sphérique, *J. Phys. Radium* 19 (3): 262–69.
- Costanzo, Linda S, 2006. *BRS Physiology*,
- Coulter, David L ve Richard J Allen, 1981. Hyperammonemia with valproic acid therapy, *The Journal of pediatrics* 99 (2): 317–19.
- Coyle, Joseph T ve Pamela Puttfarcken, 1993. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders, *Science* 262 (5134): 689–95.
- Crawford, Thomas M, 1985. Error sources in the ring down optical cavity decay time mirror reflectometer” , 295–302. *International Society for Optics and Photonics*.

- Cunnington, AJ ve P Hormbrey, 2002. Breath analysis to detect recent exposure to carbon monoxide, *Postgraduate Medical Journal* 78 (918): 233–37.
- Cunyun, Y. (2004). *Tunable external cavity diode lasers*. World Scientific.261 sf. Texas
- Dahnke, H, D Kleine, P Hering ve M Mürtz, 2001. Real-time monitoring of ethane in human breath using mid-infrared cavity leak-out spectroscopy, *Applied Physics B* 72 (8): 971–75.
- Dassow, C., Schwenninger, D., Runck, H., & Guttman, J. (2013). Time and volume dependence of dead space in healthy and surfactant-depleted rat lungs during spontaneous breathing and mechanical ventilation. *Journal of Applied Physiology*, 115(9), 1268-1274.
- Deepa, D, B Jayakumari ve Sanjeev V Thomas, 2008. Lipid peroxidation in women with epilepsy, *Annals of Indian Academy of Neurology* 11 (1): 44.
- Demirci, Seden, Süleyman Kutluhan, Mustafa Nazıroğlu, Abdülhadi Cihangir Uğuz, Vedat Ali Yürekli ve Kadir Demirci, 2013. Effects of selenium and topiramate on cytosolic Ca²⁺ influx and oxidative stress in neuronal PC12 cells, *Neurochemical research* 38 (1): 90–97.
- Devi, P Uma, Anshu Manocha ve Divya Vohora, 2008. Seizures, antiepileptics, antioxidants and oxidative stress: an insight for researchers, *Expert opinion on pharmacotherapy* 9 (18): 3169–77.
- Dexter, D. T., C. J. Carter, F. R. Wells, Fe Javoy-Agid, Y. Agid, A. Lees, P. Jenner ve C. D_ Marsden, 1989. Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease, *Journal of neurochemistry* 52 (2): 381–89.
- Dillard, Cora J ve Al L Tappel, 1989. Lipid peroxidation products in biological tissues, *Free Radical Biology and Medicine* 7 (2): 193–96.
- Diskin, Ann M, Patrik Španěl ve David Smith, 2003. Time variation of ammonia, acetone, isoprene and ethanol in breath: a quantitative SIFT-MS study over 30 days, *Physiological measurement* 24 (1): 107.
- Dragonieri, Silvano, Robert Schot, Bart JA Mertens, Saskia Le Cessie, Stefanie A Gauw, Antonio Spanevello, Onofrio Resta, Nico P Willard, Teunis J Vink ve Klaus F Rabe, 2007. An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls, *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 120 (4): 856–62.
- Duarte, Frank J, 1996. *Tunable lasers handbook*. Academic Press.

- Duncan, John S. ve Pam J. Thompson, 2003. The cognitive consequences of epilepsy, *Annals of neurology* 54 (4): 421–22.
- Dupont, Lieven J, Maurits G Demedts ve Geert M Verleden, 2003. Prospective evaluation of the validity of exhaled nitric oxide for the diagnosis of asthma, *Chest* 123 (3): 751–56.
- Eichler, H. J., & Eichler, J. (2015). *Laser: Bauformen, Strahlführung Anwendungen*. Springer-Verlag.
- Elia, Angela, Pietro Mario Lugarà, Cinzia Di Franco ve Vincenzo Spagnolo, 2009. Photoacoustic techniques for trace gas sensing based on semiconductor laser sources, *Sensors* 9 (12): 9616–28.
- Emre, Murat, 2006. 99 sayfada Alzheimer, Parkinson. Türkiye İş Bankası.
- Engel, Gregory S, Walter S Drisdell, Frank N Keutsch, Elisabeth J Moyer ve James G Anderson, 2006. Ultrasensitive near-infrared integrated cavity output spectroscopy technique for detection of CO at 1.57 μm : new sensitivity limits for absorption measurements in passive optical cavities, *Applied optics* 45 (36): 9221–29.
- Engeln, Richard, Giel Berden, Rudy Peeters ve Gerard Meijer, 1998. Cavity enhanced absorption and cavity enhanced magnetic rotation spectroscopy, *Review of scientific instruments* 69 (11): 3763–69.
- Eren, İbrahim, Mustafa Nazıroğlu ve Arif Demirdağ, 2007. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain, *Neurochemical research* 32 (7): 1188–95.
- Erhart, S., A. Amann, E. Haberlandt, G. Edlinger, A. Schmid, W. Filipiak, K. Schwarz, P. Mochalski, K. Rostasy ve D. Karall, 2009. 3-Heptanone as a potential new marker for valproic acid therapy, *Journal of breath research* 3 (1): 016004.
- Eryılmaz, Gül, Işıl Göğcegöz Gül, Barış Önen Ünsalver, Celal Salçını ve Esra Sağlam, 2014. Valproik asit kullanımına bağlı gelişen hiperamonyemik ensefalopati: Vaka sunumu, *Journal of Mood Disorders* 4 (4): 182–85.
- Esterbauer, Hermann, Rudolf J rg Schaur ve Helmward Zollner, 1990. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes.” *Free radical biology & medicine* 11 (1): 81–128.
- Filipiak, Wojciech, Andreas Sponring, Maria M Baur, Clemens Ager, Anna Filipiak, Helmut Wiesenhofer, Markus Nagl, Jakob Troppmair ve Anton Amann, 2012. Characterization of volatile metabolites taken up by or released from *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* by using GC-MS, *Microbiology* 158 (12): 3044–53.

- Fisher, Robert S, Walter van Emde Boas, Warren Blume, Christian Elger, Pierre Genton, Phillip Lee ve Jerome Engel, 2005. Epileptic seizures and epilepsy: definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE), *Epilepsia* 46 (4): 470–72.
- Fleischer, Maximilian, Elfriede Simon, Eva Rumpel, Heiko Ulmer, Mika Harbeck, Michael Wandel, Christopher Fietzek, Udo Weimar ve Hans Meixner, 2002. Detection of volatile compounds correlated to human diseases through breath analysis with chemical sensors, *Sensors and Actuators B: Chemical* 83 (1): 245–49.
- Folke, Mia, L Cernerud, M Ekström ve Bertil Hök, 2003. Critical review of non-invasive respiratory monitoring in medical care, *Medical and Biological Engineering and Computing* 41 (4): 377–83.
- Foresi, Antonio, Clementina Leone, Dario Olivieri ve George Cremona, 2007. Alveolar-derived exhaled nitric oxide is reduced in obstructive sleep apnea syndrome, *CHEST Journal* 132 (3): 860–67.
- Gagliardi, G., ve Loock, H. P. (Eds.). (2014). *Cavity-Enhanced Spectroscopy and Sensing* (pp, 163-209). London, UK:: Springer.
- Gao, Jing, Zhao-Fu Chi, Xue-Wu Liu, Pei-Yan Shan ve Rong Wang, 2007. Mitochondrial dysfunction and ultrastructural damage in the hippocampus of pilocarpine-induced epileptic rat, *Neuroscience letters* 411 (2): 152–57.
- Genç, Fatma, Gülnihal Kutlu, Yasemin Biçer Gömceli ve Levent Ertuğrul İnan, 2013. Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Epilepsi Bölümü'nde Düzenli Takip Edilen Dirençli Epilepsi Hastalarının Demografik ve Klinik Bulguları, *Epilepsi* 19 (2): 79–84.
- Gilgun-Sherki, Yossi, Eldad Melamed ve Daniel Offen, 2004. The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy, *Journal of neurology* 251 (3): 261–68.
- Gupta, Mradu, Saumyakanti Sasmal ve Arup Mukherjee, 2014. Therapeutic effects of acetone extract of saraca asoca seeds on rats with adjuvant-induced arthritis via attenuating inflammatory responses, *ISRN rheumatology* 2014.
- Halis Köylü, 2014. *Klinik Anlatımlı Tıbbi Fizyoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Hall, John E, 2015. *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. Elsevier Health Sciences.
- Halmer, D, G Von Basum, P Hering ve M Mürtz, 2005. Mid-infrared cavity leak-out spectroscopy for ultrasensitive detection of carbonyl sulfide, *Optics letters* 30 (17): 2314–16.

- Hansel, A, A Jordan, R Holzinger, P Prazeller, W Vogel ve W Lindinger, 1995. Proton transfer reaction mass spectrometry: on-line trace gas analysis at the ppb level, *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* 149: 609–19.
- Heinrich, K, T Fritsch, P Hering ve M Mürtz, 2009. Infrared laser-spectroscopic analysis of ^{14}NO and ^{15}NO in human breath, *Applied Physics B* 95 (2): 281–86.
- Herriott, D, H Kogelnik ve R Kompfner, 1964. Off-axis paths in spherical mirror interferometers, *Applied Optics* 3 (4): 523–26.
- Hibbard, Troy ve A. J. Killard, 2011. Breath ammonia levels in a normal human population study as determined by photoacoustic laser spectroscopy, *Journal of breath research* 5 (3): 037101.
- Higdon, Ashlee, Anne R Diers, Joo Yeun Oh, Aimee Landar ve Victor M Darley-Usmar, 2012. Cell signalling by reactive lipid species: new concepts and molecular mechanisms, *Biochemical Journal* 442 (3): 453–64.
- Hillas, Georgios, Stelios Loukides, Konstantinos Kostikas ve Petros Bakakos, 2009. Biomarkers obtained by non-invasive methods in patients with COPD: where do we stand, what do we expect?" *Current medicinal chemistry* 16 (22): 2824–38.
- Hirata, Shu, Tomoya Akatsuka, Yurie Ohtake ve Atsuo Morinaga, 2014. Sub-hertz-linewidth diode laser stabilized to an ultralow-drift high-finesse optical cavity, *Applied Physics Express* 7 (2): 022705.
- Hofstetter, D. et al., 2001. Photoacoustic spectroscopy with quantum cascade distributed-feedback lasers. *Optics letters*, 26(12), pp.887–9.
- Horstjann, M, YA Bakhirkin, AA Kosterev, RF Curl, FK Tittel, CM Wong, CJ Hill ve RQ Yang, 2004. Formaldehyde sensor using interband cascade laser based quartz-enhanced photoacoustic spectroscopy, *Applied Physics B* 79 (7): 799–803.
- Huh, Jeong-Eun, Byung-Kwan Seo, Yong-Hyeon Baek, Sanghoon Lee, Jae-Dong Lee, Do-Young Choi ve Dong-Suk Park, 2012. Standardized butanol fraction of WIN-34B suppresses cartilage destruction via inhibited production of matrix metalloproteinase and inflammatory mediator in osteoarthritis human cartilage explants culture and chondrocytes, *BMC complementary and alternative medicine* 12 (1): 1.
- Hung, Joseph, EG Whitford, DR Hillman ve RW Parsons, 1990. Association of sleep apnoea with myocardial infarction in men, *The Lancet* 336 (8710): 261–64.

- Ionescu, R., Broza, Y., Shaltieli, H., Sadeh, D., Zilberman, Y., Feng, X., ... & Haick, H., 2011. Detection of multiple sclerosis from exhaled breath using bilayers of polycyclic aromatic hydrocarbons and single-wall carbon nanotubes, *ACS chemical neuroscience* 2 (12): 687–93.
- Jabr, SN ve T Crawford, 1984. Wavelength-tunable mirror loss-measurement technique (A), *Journal of the Optical Society of America A* 1: 1329.
- Jackson, DA, 1961. The spherical Fabry-Perot interferometer as an instrument of high resolving power for use with external or with internal atomic beams, *İçinde* , 263:289–308. The Royal Society.
- Jenner, P, 1997. Oxidative mechanisms in nigral cell death in Parkinson's disease." *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society* 13: 24–34.
- Jones, David T ve David R Woods, 1986. Acetone-butanol fermentation revisited." *Microbiological reviews* 50 (4): 484.
- Kamal, Sahar Mohamed, 2013. Possible Anti-oxidant Effect of Lamotrigine in Nucleus Accumbens of Mice Exposed to Picrotoxin, *Journal of Neurological Disorders* 2013.
- Kangalgil, Melda ve Eren Canbolat, 2016. Kolesterolün Bazı Nörolojik Hastalıkların Patogenezindeki Rolü, *Eur J Health Sci* 2 (2): 56–63.
- Kaspar, Sebastian, Benno Rosener, Marcel Rattunde, Tino Topper, Christian Manz, Klaus Kohler, Oliver Ambacher ve Joachim Wagner, 2011. Sub-MHz-Linewidth 200-mW actively stabilized 2.3- μm semiconductor disk laser, *IEEE Photonics Technology Letters* 23 (20): 1538–40.
- Kasyutich, Vasili L ve Markus W Sigrist, 2015. Optimisation of laser linewidth and cavity alignment in off-axis cavity-enhanced absorption spectroscopy, *Infrared Physics & Technology* 71: 179–86.
- Kearney, David J., Todd Hubbard ve David Putnam, 2002. Breath ammonia measurement in *Helicobacter pylori* infection, *Digestive diseases and sciences* 47 (11): 2523–30.
- Kim, K-H, Shamin Ara Jahan ve Ehsanul Kabir, 2012. A review of breath analysis for diagnosis of human health, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 33: 1–8.
- King, Julian, Alexander Kupferthaler, Birgit Frauscher, Heinz Hackner, Karl Unterkofler, Gerald Teschl, Hartmann Hinterhuber, Anton Amann ve Birgit Högl, 2012. Measurement of endogenous acetone and isoprene in exhaled breath during sleep, *Physiological measurement* 33 (3): 413.

- Kinter, Michael, 1995. Analytical technologies for lipid oxidation products analysis, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 671 (1): 223–36.
- Kischkel, Sabine, Wolfram Miekisch, Annika Sawacki, Eva M. Straker, Phillip Trefz, Anton Amann ve Jochen K. Schubert, 2010. Breath biomarkers for lung cancer detection and assessment of smoking related effects—confounding variables, influence of normalization and statistical algorithms, *Clinica Chimica Acta* 411 (21): 1637–44.
- Kosterev, Anatoliy A, Alexander L Malinovsky, Frank K Tittel, Claire Gmachl, Federico Capasso, Deborah L Sivco, James N Baillargeon, Albert L Hutchinson ve Alfred Y Cho, 2001a. Cavity ringdown spectroscopic detection of nitric oxide with a continuous-wave quantum-cascade laser, *Applied optics* 40 (30): 5522–29.
- Kosterev, A. A., Malinovsky, A. L., Tittel, F. K., Gmachl, C., Capasso, F., Sivco, D. L., ... & Cho, A. Y, 2001. Cavity ringdown spectroscopic detection of nitric oxide with a continuous-wave quantum-cascade laser, *Applied optics* 40 (30): 5522–29.
- Kosterev, Anatoliy A ve Frank K Tittel, 2004. Ammonia detection by use of quartz-enhanced photoacoustic spectroscopy with a near-IR telecommunication diode laser, *Applied Optics* 43 (33): 6213–17.
- Kosterev, a a, Yu a Bakhirkin, R F Curl, and F K Tittel, 2002. Quartz-Enhanced Photoacoustic Spectroscopy.” *Optics Letters* 27 (21): 1902–4. doi:10.1364/OL.27.001902.
- Kostikas, Konstantinos, Georgios Papatheodorou, Konstantinos Psathakis, Panos Panagou ve Stelios Loukides, 2003. Oxidative stress in expired breath condensate of patients with COPD, *Chest* 124 (4): 1373–80.
- Kunos, Laszlo, Andras Bikov, Zsofia Lazar, Beata Zita Korosi, Palma Benedek, Gyorgy Losonczy ve Ildiko Horvath, 2015. Evening and morning exhaled volatile compound patterns are different in obstructive sleep apnoea assessed with electronic nose, *Sleep and Breathing* 19 (1): 247–53.
- Kupari, Markku, Jyri Lommi, Markku Ventilä ve Ulla Karjalainen, 1995. Breath acetone in congestive heart failure, *The American journal of cardiology* 76 (14): 1076–78.
- Kushch, Ievgeniia, Konrad Schwarz, Lukas Schwentner, Bettina Baumann, Alexander Dzien, Alex Schmid, Karl Unterkofler, Günter Gastl, Patrik Španěl ve David Smith, 2008. Compounds enhanced in a mass spectrometric profile of smokers’ exhaled breath versus non-smokers as determined in a pilot study using PTR-MS, *Journal of breath research* 2 (2): 026002.

- Laakso, Olli, Matti Haapala, Teemu Pennanen, Tapio Kuitunen ve Jaakko-Juhani Himberg, 2007. Fourier-Transformed Infrared Breath Testing After Ingestion of Technical Alcohol, *Journal of forensic sciences* 52 (4): 982–87.
- Lang, Daniel G., CHING M. Wang ve B. R. Cooper, 1993. Lamotrigine, phenytoin and carbamazepine interactions on the sodium current present in N4TG1 mouse neuroblastoma cells." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 266 (2): 829–35.
- Lases, Edmée C, Vincent AM Durkens, Wim BM Gerritsen ve Fred JLM Haas, 2000. Oxidative stress after lung resection therapy: a pilot study, *CHEST Journal* 117 (4): 999–1003.
- Lazar, Adina N, Claudia Bich, Mai Panchal, Nicolas Desbenoit, Vanessa W Petit, David Touboul, Luce Dauphinot, Catherine Marquer, Olivier Laprévotte ve Alain Brunelle, 2013. Time-of-flight secondary ion mass spectrometry (TOF-SIMS) imaging reveals cholesterol overload in the cerebral cortex of Alzheimer disease patients, *Acta neuropathologica* 125 (1): 133–44.
- Lee, Peter S, RF Majkowski ve TA Perry, 1991. Tunable diode laser spectroscopy for isotope analysis-detection of isotopic carbon monoxide in exhaled breath, *IEEE transactions on biomedical engineering* 38 (10): 966–73.
- Lee, Won, Swamy Nagubadi, Meir H Kryger ve Babak Mokhlesi, 2008. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population-based perspective, *Expert review of respiratory medicine* 2 (3): 349–64.
- Lefebvre, Blandine, Jean-Louis Pépin, Jean-Philippe Baguet, Renaud Tamisier, Mathieu Roustit, Karena Riedweg, Germain Bessard, Patrick Lévy ve Françoise Stanke-Labesque, 2008. Leukotriene B4: early mediator of atherosclerosis in obstructive sleep apnoea?" *European Respiratory Journal* 32 (1): 113–20.
- Lewicki, R, G Wysocki, AA Kosterev ve FK Tittel, 2007. Carbon dioxide and ammonia detection using 2 μm diode laser based quartz-enhanced photoacoustic spectroscopy, *Applied Physics B* 87 (1): 157–62.
- Li, Wenwen, Yong Liu, Xiaoyong Lu, Yanping Huang, Yu Liu, Shouquan Cheng ve Yixiang Duan, 2015. A cross-sectional study of breath acetone based on diabetic metabolic disorders, *Journal of breath research* 9 (1): 016005.
- Li, Yongxia, Virasakdi Chongsuvivatwong, Alan Geater ve Ao Liu, 2008. Are biomarker levels a good follow-up tool for evaluating obstructive sleep apnea syndrome treatments?" *Respiration* 76 (3): 317–23.
- Li, Y., Chongsuvivatwong, V., Geater, A., & Liu, A. (2009). Exhaled breath condensate cytokine level as a diagnostic tool for obstructive sleep apnea syndrome 2009. Exhaled breath condensate cytokine level as a

diagnostic tool for obstructive sleep apnea syndrome, *Sleep medicine* 10 (1): 95–103.

Libardoni, Mark, PT Stevens, J Hunter Waite ve Richard Sacks, 2006. Analysis of human breath samples with a multi-bed sorption trap and comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC× GC), *Journal of Chromatography B* 842 (1): 13–21.

Ligor, Tomasz, Clemens Ager, Konrad Schwarz, Wojciech Zebrowski, Anton Amann ve Boguslaw Buszewski, 2009. Comparison of proton transfer reaction-mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry in analysis of breath samples, *Chemia Analityczna* 54 (3): 329.

Loubaki, Lionel, Eric Jacques, Abdelhabib Semlali, Sabrina Biardel, Jamila Chakir ve Frédéric Sériès, 2008. Tumor necrosis factor- α expression in uvular tissues differs between snorers and apneic patients, *CHEST Journal* 134 (5): 911–18.

Lundquist, Per, Hans Rosling ve Bo Sörbo, 1988. The origin of hydrogen cyanide in breath, *Archives of toxicology* 61 (4): 270–74.

Maddaloni, P., Gagliardi, G., Malara, P., & De Natale, P. (2006). Off-axis integrated-cavity-output spectroscopy for trace-gas concentration measurements: modeling and performance. *JOSA B*, 23(9), 1938-1945.

Malakasioti, Georgia, Emmanouel Alexopoulos, Christina Befani, Kalliopi Tanou, Vasiliki Varlami, Dimitrios Ziogas, Panayiotis Liakos, Konstantinos Gourgoulisanis ve Athanasios G Kaditis, 2012. Oxidative stress and inflammatory markers in the exhaled breath condensate of children with OSA, *Sleep and Breathing* 16 (3): 703–8.

Manne, Jagadeeshwari, Oleksandr Sukhorukov, Wolfgang Jäger ve John Tulip, 2006. Pulsed quantum cascade laser-based cavity ring-down spectroscopy for ammonia detection in breath, *Applied optics* 45 (36): 9230–37.

Marcondes-Braga, Fabiana G, Ivano GR Gutz, Guilherme L Batista, Paulo HN Saldiva, Silvia M Ayub-Ferreira, Victor S Issa, Sandrigo Mangini, Edimar A Bocchi ve Fernando Bacal, 2012. Exhaled Acetone as a new biomarker of heart failure severity, *CHEST Journal* 142 (2): 457–66.

Martinez-Ballesteros, C., E. Pita-Calandre, Y. Sanchez-Gonzalez, C. M. Rodriguez-Lopez ve A. Agil, 2003. [Lipid peroxidation in adult epileptic patients treated with valproic acid], *Revista de neurologia* 38 (2): 101–6.

Mazurenka, Mikhail, Andrew J. Orr-Ewing, Robert Peverall, and Grant a. D. Ritchie, 2005. 4 Cavity Ring-down and Cavity Enhanced Spectroscopy Using Diode Lasers." *Annual Reports Section "C" (Physical Chemistry)* 101:

100. doi:10.1039/b408909j.

- Mazzatenta, Andrea, Camillo Di Giulio ve Mieczyslaw Pokorski, 2013. Pathologies currently identified by exhaled biomarkers, *Respiratory physiology & neurobiology* 187 (1): 128–34.
- Mazzone, Peter J, Jeffrey Hammel, Raed Dweik, Jie Na, Carmen Czich, Daniel Laskowski ve Tarek Mekhail, 2007. Diagnosis of lung cancer by the analysis of exhaled breath with a colorimetric sensor array, *Thorax* 62 (7): 565–68.
- McCurdy, Matthew R, Yury Bakhirkin, Gerard Wysocki, Rafal Lewicki ve Frank K Tittel, 2007. Recent advances of laser-spectroscopy-based techniques for applications in breath analysis, *Journal of Breath Research* 1 (1): 014001.
- Menzel, L, AA Kosterev, RF Curl, FK Tittel, C Gmachl, F Capasso, DL Sivco, JN Baillargeon, AL Hutchinson ve AY Cho, 2001. Spectroscopic detection of biological NO with a quantum cascade laser, *Applied Physics B* 72 (7): 859–63.
- Miekisch, Wolfram, Jochen K Schubert ve Gabriele FE Noeldge-Schomburg, 2004. Diagnostic potential of breath analysis—focus on volatile organic compounds, *Clinica chimica acta* 347 (1): 25–39.
- Mihalcea, RM, DS Baer ve RK Hanson, 1996. Tunable diode-laser absorption measurements of NO₂ near 670 and 395 nm, *Applied optics* 35 (21): 4059–64.
- Miller, Elżbieta, Małgorzata Mrowicka, Joanna Saluk-Juszczak ve Majsterek Ireneusz, 2011. The level of isoprostanes as a non-invasive marker for in vivo lipid peroxidation in secondary progressive multiple sclerosis, *Neurochemical research* 36 (6): 1012–16.
- Milonni, Peter W ve Joseph H Eberly, 2010. *Laser Physics.*”
- Minh, Timothy Do Chau, Donald Ray Blake ve Pietro Renato Galassetti, 2012. The clinical potential of exhaled breath analysis for diabetes mellitus, *Diabetes research and clinical practice* 97 (2): 195–205.
- Monneret, Denis, Jean-Louis Pepin, Diane Godin-Ribuot, Veronique Ducros, Jean-Philippe Baguet, Patrick Levy ve Patrice Faure, 2010. Association of urinary 15-F_{2t}-isoprostane level with oxygen desaturation and carotid intima-media thickness in nonobese sleep apnea patients, *Free Radical Biology and Medicine* 48 (4): 619–25.
- Montuschi, Paolo ve Peter J Barnes, 2002. Analysis of exhaled breath condensate for monitoring airway inflammation, *Trends in pharmacological sciences* 23 (5): 232–37.

- Moretti, Michael, Michael Phillips, Ahmed Abouzeid, Renee N Cataneo ve Joel Greenberg, 2004. Increased breath markers of oxidative stress in normal pregnancy and in preeclampsia, *American journal of obstetrics and gynecology* 190 (5): 1184–90.
- Moskalenko, Konstantin L, Alexander I Nadezhdinskii ve Inna A Adamovskaya, 1996. Human breath trace gas content study by tunable diode laser spectroscopy technique, *Infrared physics & technology* 37 (1): 181–92.
- Murphy, Jerome V, 1982. Asymptomatic hyperammonemia in patients receiving valproic acid, *Archives of neurology* 39 (9): 591–92.
- Mürtz, Manfred, Daniel Halmer, Markus Horstjann, Sven Thelen ve Peter Hering, 2006. Ultra sensitive trace gas detection for biomedical applications, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 63 (5): 963–69.
- Mylonas, C ve D Kouretas, 1998. Lipid peroxidation and tissue damage.” *In vivo* (Athens, Greece) 13 (3): 295–309.
- Namjou, K, CB Roller, TE Reich, JD Jeffers, GL McMillen, PJ McCann ve MA Camp, 2006. Determination of exhaled nitric oxide distributions in a diverse sample population using tunable diode laser absorption spectroscopy, *Applied Physics B* 85 (2–3): 427–35.
- Nasim, H., & Jamil, Y. (2013). Recent advancements in spectroscopy using tunable diode lasers. *Laser Physics Letters*, 10(4), 043001.
- Rudolf Neuhaus, Ph.D. TOPTICA Photonics AG Diode Laser Locking and Linewidth Narrowing Appl-1012 Erişim Tarihi: 03.04.2016 http://www.toptica.com/fileadmin/Editors_English/03_products/09_laser_diodes_photonics/02_photonics/Laser_Locking_and_Linewidth_Narrowing.pdf
- Nizam, Nejat, Ozen K Basoglu, Mehmet S Tasbakan, Ayşe Nalbantsoy ve Nurcan Buduneli, 2014. Salivary cytokines and the association between obstructive sleep apnea syndrome and periodontal disease, *Journal of periodontology* 85 (7): e251–58.
- Ogimoto, Yusuke, Roman Selyanchyn, Naoki Takahara, Shunichi Wakamatsu ve Seung-Woo Lee, 2015. Detection of ammonia in human breath using quartz crystal microbalance sensors with functionalized mesoporous SiO₂ nanoparticle films, *Sensors and Actuators B: Chemical* 215: 428–36.
- Ohtani, Yoshinobu, Fumio Endo ve Ichiro Matsuda, 1982. Carnitine deficiency and hyperammonemia associated with valproic acid therapy, *The Journal of pediatrics* 101 (5): 782–85.

- O'Keefe, Anthony ve David AG Deacon, 1988. Cavity ring-down optical spectrometer for absorption measurements using pulsed laser sources, *Review of Scientific Instruments* 59 (12): 2544–51.
- O'Keefe, Anthony, James J Scherer ve Joshua B Paul, 1999. CW integrated cavity output spectroscopy, *Chemical Physics Letters* 307 (5): 343–49.
- Oliveira, A. de A., Linhares, M. I., Filho, A. J. M. C., Rios, E. R. V., Lima, C. N. de C., Venancio, E. T., de Souza, A. G., de Lima, K. A., de Sousa, F. C. F., Gaspar, D. M., & Fonteles, M. M. de F. Klitenes Alves de Lima, Francisca Cléa Florenço de So, D. M. G. and M. M. de F. F. (2016). Antioxidant properties of antiepileptic drugs levetiracetam and clonazepam in mice brain after in vitro-induced oxidative stress. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 10(14), 278–288.
- Oliveira, A. A., Almeida, J. P. C., Freitas, R. M., Nascimento, V. S., Aguiar, L. M. V, J??nior, H. V. N., ... Fonteles, M. M. F. (2007). Effects of levetiracetam in lipid peroxidation level, nitrite-nitrate formation and antioxidant enzymatic activity in mice brain after pilocarpine-induced seizures. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 27(3), 395–406.
- Olopade, Christopher O, James A Christon, Mohamed Zakkar, William I Swedler, Israel Rubinstein, Chi-wei Hua ve Peter A Scheff, 1997. Exhaled pentane and nitric oxide levels in patients with obstructive sleep apnea, *CHEST Journal* 111 (6): 1500–1504.
- Orhan, Hilmi, 2007. Analyses of representative biomarkers of exposure and effect by chromatographic, mass spectrometric, and nuclear magnetic resonance techniques: method development and application in life sciences, *Journal of separation science* 30 (2): 149–74.
- Owen, Kyle ve Aamir Farooq, 2014. A calibration-free ammonia breath sensor using a quantum cascade laser with WMS 2f/1f, *Applied Physics B* 116 (2): 371–83.
- Pabst, Florian, Wolfram Miekisch, Patricia Fuchs, Sabine Kischkel ve Jochen K Schubert, 2007. Monitoring of oxidative and metabolic stress during cardiac surgery by means of breath biomarkers: an observational study, *Journal of cardiothoracic surgery* 2 (1): 1.
- Paldus, BA, CC Harb, TG Spence, RN Zare, C Gmachl, F Capasso, DL Sivco, JN Baillargeon, AL Hutchinson ve AY Cho, 2000. Cavity ringdown spectroscopy using mid-infrared quantum-cascade lasers, *Optics letters* 25 (9): 666–68.
- Paredi, Paolo, Wojciech Biernacki, Giovanni Invernizzi, Sergei A Kharitonov ve Peter J Barnes, 1999. Exhaled carbon monoxide levels elevated in diabetes and correlated with glucose concentration in blood: a new test for monitoring the disease?" *CHEST Journal* 116 (4): 1007–11.

- Paredi, Paolo, Sergei A Kharitonov ve Peter J Barnes, 2000. Elevation of exhaled ethane concentration in asthma, *American journal of respiratory and critical care medicine* 162 (4): 1450–54.
- Paredi, Paolo, Sergei A Kharitonov, David Leak, Simon Ward, David Cramer, Ve Peter J Barnes, 2000. Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease, *American journal of respiratory and critical care medicine* 162 (2): 369–73.
- Paschotta, R. (2008). *Field guide to laser pulse generation* (Vol, 14). Bellingham: SPIE Press.
- Paschotta, R. (2008). *Field guide to laser pulse generation* (Vol, 14). Bellingham: SPIE Press.
- Patel, Manisha, 2004. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: cause and consequence of epileptic seizures, *Free Radical Biology and Medicine* 37 (12): 1951–62.
- Paul, Joshua B, Larry Lapson ve James G Anderson, 2001a. Ultrasensitive absorption spectroscopy with a high-finesse optical cavity and off-axis alignment, *Applied Optics* 40 (27): 4904–10.
- Paul, J. B., Lapson, L., & Anderson, J. G., 2001. Ultrasensitive absorption spectroscopy with a high-finesse optical cavity and off-axis alignment, *Applied Optics* 40 (27): 4904–10.
- Paul, Rajib, Amarendranath Choudhury ve Anupom Borah, 2015. Cholesterol–A putative endogenous contributor towards Parkinson’s disease, *Neurochemistry international* 90: 125–33.
- Pauling, Linus, Arthur B Robinson, Roy Teranishi ve Paul Cary, 1971. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 68 (10): 2374–76.
- Pearce, Tim C., Susan S. Schiffman, H. Troy Nagle ve Julian W. Gardner, 2006. *Handbook of machine olfaction: electronic nose technology*. John Wiley & Sons.
- Peeters, R, G Berden, A Apituley ve G Meijer, 2000. Open-path trace gas detection of ammonia based on cavity-enhanced absorption spectroscopy, *Applied Physics B* 71 (2): 231–36.
- Peker, Yüksel, Jan Hedner, Jeanette Norum, Holger Kraiczi ve Jan Carlson, 2002. Increased incidence of cardiovascular disease in middle-aged men with obstructive sleep apnea: a 7-year follow-up, *American journal of respiratory and critical care medicine* 166 (2): 159–65.

- Peled, Nir, Micha Kassirer, David Shitrit, Yivgeny Kogan, Dekel Shlomi, Abraham Shlomo Berliner ve Mordechai Reuven Kramer, 2007. The association of OSA with insulin resistance, inflammation and metabolic syndrome, *Respiratory medicine* 101 (8): 1696–1701.
- Perman, Jay A, 1991. Clinical application of breath hydrogen measurements, *Canadian journal of physiology and pharmacology* 69 (1): 111–15.
- Petrosyan, Marina, Eleni Perraki, Davina Simoes, Ioannis Koutsourelakis, Emmanouil Vagiakis, Charis Roussos ve Christina Gratzidou, 2008. Exhaled breath markers in patients with obstructive sleep apnoea, *Sleep and Breathing* 12 (3): 207–15.
- Phillips, Michael, Renee N Cataneo, Andrew RC Cummin, Anthony J Gagliardi, Kevin Gleeson, Joel Greenberg, Roger A Maxfield ve William N Rom, 2003. Detection of lung cancer with volatile markers in the breath, *Chest Journal* 123 (6): 2115–23.
- Pijnenburg, MWH ve JC De Jongste, 2008. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review, *Clinical & Experimental Allergy* 38 (2): 246–59.
- Pleil, Joachim D, Matthew A Stiegel ve Terence H Risby, 2013. Clinical breath analysis: discriminating between human endogenous compounds and exogenous (environmental) chemical confounders, *Journal of breath research* 7 (1): 017107.
- Poli, Diana, Matteo Goldoni, Massimo Corradi, Olga Acampa, Paolo Carbognani, Eveline Internullo, Angelo Casalini ve Antonio Mutti, 2010. Determination of aldehydes in exhaled breath of patients with lung cancer by means of on-fiber-derivatisation SPME-GC/MS, *Journal of Chromatography B* 878 (27): 2643–51.
- Prabhakar, Amlendu, Ashley Quach, Di Wang, Haojiong Zhang, Mirna Terrera, David Jackemeyer, Xiaojun Xian, Francis Tsow, Nongjian Tao ve Erica Forzanil, 2014. Breath acetone as biomarker for lipid oxidation and early ketone detection, *Global Journal of Obesity, Diabetes and Metabolic Syndrome* 1 (1): 012–019.
- Pryor, William A, Ballabh Das ve Daniel F Church, 1991. The ozonation of unsaturated fatty acids: aldehydes and hydrogen peroxide as products and possible mediators of ozone toxicity, *Chemical research in toxicology* 4 (3): 341–48.
- Punjabi, Naresh M, 2008. The epidemiology of adult obstructive sleep apnea, *Proceedings of the American Thoracic Society* 5 (2): 136–43.
- Pushkarsky, MB, ME Webber ve CKN Patel, 2003. Ultra-sensitive ambient ammonia detection using CO₂-laser-based photoacoustic spectroscopy, *Applied Physics B* 77 (4): 381–85.

- Rawat, Sumant, Winslow J Borkowski ve Herbert M Swick, 1981. Valproic acid and secondary hyperammonemia, *Neurology* 31 (9): 1173–1173.
- Rechtschaffen, Allan ve Anthony Kales, 1968. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects,
- Reichmuth, Kevin J, Diane Austin, James B Skatrud ve Terry Young, 2005. Association of sleep apnea and type II diabetes: a population-based study, *American journal of respiratory and critical care medicine* 172 (12): 1590–95.
- Risby, Terence H ve SF Solga, 2006. Current status of clinical breath analysis, *Applied Physics B* 85 (2–3): 421–26.
- Roller, Chad, Khosrow Namjou, James D Jeffers, Mark Camp, Adam Mock, Patrick J McCann ve Joe Grego, 2002. Nitric oxide breath testing by tunable-diode laser absorption spectroscopy: application in monitoring respiratory inflammation, *Applied optics* 41 (28): 6018–29.
- Rothman, Larry S, CP Rinsland, A Goldman, ST Massie, DP Edwards, JM Flaud, A Perrin, C Camy-Peyret, V Dana ve J-Y Mandin, 1998. The HITRAN molecular spectroscopic database and HAWKS (HITRAN atmospheric workstation): 1996 edition, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 60 (5): 665–710.
- Sanchez, Juan M ve Richard D Sacks, 2003. GC analysis of human breath with a series-coupled column ensemble and a multibed sorption trap, *Analytical chemistry* 75 (10): 2231–36.
- Schilt, Stéphane, Nikola Bucalovic, Lionel Tombez, Vladimir Dolgovskiy, Christian Schori, Gianni Di Domenico, Michele Zaffalon ve Pierre Thomann, 2011. Frequency discriminators for the characterization of narrow-spectrum heterodyne beat signals: application to the measurement of a sub-hertz carrier-envelope-offset beat in an optical frequency comb, *Review of Scientific Instruments* 82 (12): 123116.
- Schmidt, FM, Olavi Vaittinen, Markus Metsälä, Markku Lehto, C Forsblom, PH Groop ve Lauri Halonen, 2013. Ammonia in breath and emitted from skin, *Journal of breath research* 7 (1): 017109.
- Schubert, JK, WPE Müller, A Benzing ve K Geiger, 1998. Application of a new method for analysis of exhaled gas in critically ill patients, *Intensive care medicine* 24 (5): 415–21.
- Schubert, Jochen K, Wolfram Miekisch, Klaus Geiger ve Gabriele FE Nöldge-Schomburg, 2004. Breath analysis in critically ill patients: potential and limitations, *Expert review of molecular diagnostics* 4 (5): 619–29

Severinghaus, JW ve M Stupfel, 1957. Alveoler dead space as an index of distribution of blood flow in pulmonary capillaries, *Journal of Applied Physiology* 10 (3): 335–48.

Silfvast, W. T. (2004). *Laser fundamentals*. Cambridge University Press.

Smith, David ve Patrik Španěl, 2005. Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) for on-line trace gas analysis, *Mass Spectrometry Reviews* 24 (5): 661–700.

Smith, David, Tianshu Wang, Andriy Pysanenko ve Patrik Španěl, 2008. A selected ion flow tube mass spectrometry study of ammonia in mouth- and nose-exhaled breath and in the oral cavity, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22 (6): 783–89.

Song, Geng, Tao Qin, Hu Liu, Guo-Bing Xu, Yue-Yin Pan, Fu-Xing Xiong, Kang-Sheng Gu, Guo-Ping Sun ve Zhen-Dong Chen, 2010. Quantitative breath analysis of volatile organic compounds of lung cancer patients, *Lung Cancer* 67 (2): 227–31.

Spacek, Lisa A, Matthew Mudalel, Frank Tittel, Terence H Risby ve Steven F Solga, 2015. Clinical utility of breath ammonia for evaluation of ammonia physiology in healthy and cirrhotic adults, *Journal of breath research* 9 (4): 047109.

Stettner, Mark, Thomas Dehmel, Anne K Mausberg, Angelika Köhne, Christine R Rose ve Bernd C Kieseier, 2011. Levetiracetam exhibits protective properties on rat Schwann cells in vitro, *Journal of the Peripheral Nervous System* 16 (3): 250–60.

Storer, Malina, Jack Dummer, Helen Lunt, Jenny Scotter, Fiona McCartin, Julie Cook, Maureen Swanney, Deborah Kendall, Florence Logan ve Michael Epton, 2011. Measurement of breath acetone concentrations by selected ion flow tube mass spectrometry in type 2 diabetes, *Journal of breath research* 5 (4): 046011.

Sudha, K, Ashalatha V Rao ve Anjali Rao, 2001. Oxidative stress and antioxidants in epilepsy, *Clinica Chimica Acta* 303 (1): 19–24.

Şule, GÖK, 2006. Antiepileptik ilaç Zehirlenmeleri, *Türkiye Klinikleri Journal of Surgical Medical Sciences* 2 (46): 112–20.

Tahir Hatiboğlu, 1984. *Anatomi ve Fizioloji*, 2. baskı. Hatiboğlu Yayınevi.

Tamura, Akira, Yoshiyuki Kawano, Toru Watanabe ve Junichi Kadota, 2008. Relationship between the severity of obstructive sleep apnea and impaired glucose metabolism in patients with obstructive sleep apnea, *Respiratory medicine* 102 (10): 1412–16.

- Tasali, Esra, Babak Mokhlesi ve Eve Van Cauter, 2008. Obstructive sleep apnea and type 2 diabetes: interacting epidemics, *CHEST Journal* 133 (2): 496–506.
- Teshima, Norio, Jianzhong Li, Kei Toda ve Purnendu K Dasgupta, 2005. Determination of acetone in breath, *Analytica Chimica Acta* 535 (1): 189–99.
- Thorpe, Michael J, David Balslev-Clausen, Matthew S Kirchner ve Jun Ye, 2008a. Cavity-enhanced optical frequency comb spectroscopy: application to human breath analysis, *Optics Express* 16 (4): 2387–97.
- Thorpe, M. J., Balslev-Clausen, D., Kirchner, M. S., & Ye, J., 2008. Cavity-enhanced optical frequency comb spectroscopy: application to human breath analysis, *Optics Express* 16 (4): 2387–97.
- Tisch, Ulrike, Ilana Schlesinger, Radu Ionescu, Maria Nassar, Noa Axelrod, Dorina Robertman, Yael Tessler, Faris Azar, Abraham Marmur ve Judith Aharon-Peretz, 2013. Detection of Alzheimer's and Parkinson's disease from exhaled breath using nanomaterial-based sensors, *Nanomedicine* 8 (1): 43–56.
- Tortora, Gerard J ve Bryan H Derrickson, 2008. Principles of anatomy and physiology. John Wiley & Sons.
- Toshniwal, Pradip K. ve Edwin J. Zarling, 1992. Evidence for increased lipid peroxidation in multiple sclerosis, *Neurochemical Research* 17 (2): 205–7. doi:10.1007/BF00966801.
- Turner, Claire, Patrik Španěl ve David Smith, 2006a. A longitudinal study of ammonia, acetone and propanol in the exhaled breath of 30 subjects using selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS, *Physiological measurement* 27 (4): 321.
- Turner, C., Španěl, P., & Smith, D., 2006 “A longitudinal study of methanol in the exhaled breath of 30 healthy volunteers using selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS, *Physiological measurement* 27 (7): 637.
- Tutkan, Hava, 2006. Multipl Sklerozda Otonom İşlev Bozuklukları, Dr.Lütfi Kırdar Kartal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Nöroloji Kliniği.
- Ueda, Y., Doi, T., Takaki, M., Nagatomo, K., Nakajima, A., & Willmore, L. J. (2009). Levetiracetam enhances endogenous antioxidant in the hippocampus of rats: In vivo evaluation by brain microdialysis combined with ESR spectroscopy. *Brain Research*, 1266, 1–7.
- Varoglu, A. O., Yildirim, A., Aygul, R., Gundogdu, O. L., & Sahin, Y. N. (2010). Effects of valproate, carbamazepine, and levetiracetam on the

antioxidant and oxidant systems in epileptic patients and their clinical importance. *Clinical Neuropharmacology*, 33(3), 155–157.

Van De Kraats, C., J. Killestein, V. Popescu, E. Rijkers, H. Vrenken, D. Lütjohann, F. Barkhof, C. H. Polman ve C. E. Teunissen, 2013. Oxysterols and cholesterol precursors correlate to magnetic resonance imaging measures of neurodegeneration in multiple sclerosis, *Multiple Sclerosis Journal*, 1352458513499421.

Verrotti, Alberto, Alessandra Scardapane, Emilio Franzoni, Rossella Manco ve Francesco Chiarelli, 2008. Increased oxidative stress in epileptic children treated with valproic acid, *Epilepsy research* 78 (2): 171–77.

Vgontzas, Alexandros N, Edward O Bixler ve George P Chrousos, 2005. Sleep apnea is a manifestation of the metabolic syndrome, *Sleep medicine reviews* 9 (3): 211–24.

Waldbaum, Simon ve Manisha Patel, 2010. Mitochondria, oxidative stress, and temporal lobe epilepsy, *Epilepsy research* 88 (1): 23–45.

Wang, Chuji, Armstrong Mbi ve Mark Shepherd, 2010. A study on breath acetone in diabetic patients using a cavity ringdown breath analyzer: exploring correlations of breath acetone with blood glucose and glycohemoglobin A1C, *IEEE Sensors Journal* 10 (1): 54–63.

Wang, Chuji ve Peeyush Sahay, 2009. Breath analysis using laser spectroscopic techniques: breath biomarkers, spectral fingerprints, and detection limits, *Sensors* 9 (10): 8230–62.

Wang, Chuji ve Anand B Surampudi, 2008. An acetone breath analyzer using cavity ringdown spectroscopy: an initial test with human subjects under various situations, *Measurement Science and Technology* 19 (10): 105604.

Wang, Pin, Keqin Xie, Cunfu Wang ve Jianzhong Bi, 2014. Oxidative stress induced by lipid peroxidation is related with inflammation of demyelination and neurodegeneration in multiple sclerosis, *European neurology* 72 (3–4): 249–54.

Wang, Zhennan ve Chuji Wang, 2013. Is breath acetone a biomarker of diabetes? A historical review on breath acetone measurements, *Journal of breath research* 7 (3): 037109.

Wanger, J., J. L. Clausen, A. Coates, O. F. Pedersen, V. Brusasco, F. Burgos, R. Casaburi, vd., 2005. Standardisation of the measurement of lung volumes, *European Respiratory Journal* 26 (3): 511. doi:10.1183/09031936.05.00035005.

- Webber, Michael E, Douglas S Baer ve Ronald K Hanson, 2001. Ammonia monitoring near 1.5 μm with diode-laser absorption sensors, *Applied Optics* 40 (12): 2031–42.
- Wehinger, Andreas, Alex Schmid, Sergei Mechtcheriakov, Maximilian Ledochowski, Christoph Grabmer, Guenther A Gastl ve Anton Amann, 2007. Lung cancer detection by proton transfer reaction mass-spectrometric analysis of human breath gas, *International Journal of Mass Spectrometry* 265 (1): 49–59.
- Weidmann, D, FK Tittel, T Aellen, M Beck, D Hofstetter, J Faist ve S Blaser, 2004. Mid-infrared trace-gas sensing with a quasi-continuous-wave Peltier-cooled distributed feedback quantum cascade laser, *Applied Physics B* 79 (7): 907–13.
- Williams, Catherine J, Frank B Hu, Sanjay R Patel ve Christos S Mantzoros, 2007. Sleep duration and snoring in relation to biomarkers of cardiovascular disease risk among women with type 2 diabetes, *Diabetes care* 30 (5): 1233–40.
- Winek, Charles L, Wagdy W Wahba ve Tracey Winek Balzer, 2001. Drug and chemical blood-level data 2001, *Forensic Science International* 122 (2): 107–23.
- Wojtas, J, Z Bielecki, T Stacewicz, J Mikołajczyk ve M Nowakowski, 2012a. Ultrasensitive laser spectroscopy for breath analysis, *Opto-electronics review* 20 (1): 26–39.
- Wojtas, J., Bielecki, Z., Stacewicz, T., Mikołajczyk, J., & Nowakowski, M., 2012. Ultrasensitive laser spectroscopy for breath analysis, *Opto-electronics review* 20 (1): 26–39.
- Yiş, Uluç, 2008. Yeni idiyopatik epilepsi tanısı alan ve idiyopatik epilepsi nedeni ile valproik asit tedavisi kullanan hastalarda eritrositlerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim düzeylerinin belirlenmesi,
- Zhao, Yang, Ye Li, Qiang Wang, Fei Meng, Yige Lin, Shaokai Wang, Baike Lin, Shiyong Cao, Jianping Cao ve Zhanjun Fang, 2012. 100-Hz linewidth diode laser with external optical feedback, *IEEE Photonics Technology Letters* 24 (20): 1795–98.
- Zhao, YT, JM Zhao, T Huang, LT Xiao ve ST Jia, 2004. Frequency stabilization of an external-cavity diode laser with a thin Cs vapour cell, *Journal of Physics D: Applied Physics* 37 (9): 1316.
- Zhornitsky, Simon, Kyla A. McKay, Luanne M. Metz, Charlotte E. Teunissen ve Manu Rangachari, 2016. Cholesterol and markers of cholesterol turnover in multiple sclerosis: relationship with disease outcomes, *Multiple sclerosis and related disorders* 5: 53–65.

EKLER

EK A. ETİK KURUL İZİN BELGESİ



EK A. ETİK KURUL İZİN BELGESİ



Giden Evrak Servisi Giden Evrak
No: 10329 Giden Evrak Tarihi:
28.01.2013 Güvenlik Kodu: 499019
İşlem Takip No: 833283

T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI Türkiye İlaç ve
Tıbbi Cihaz Kurumu

Sayı : 26247029-514-11-01
Konu : İlaç Dışı Çalışma [2012-10-435]

Sn. Yrd. Doç. Dr. İsmail BAYRAKLI SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TEKNOLOJİ FAKÜLTESİ BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ISPARTA

İlgi: Bakanlık evrak kayıt 21.01.2013 tarih, 012515 sayılı ve 833283 e-takip no' lu yazınız

Yrd. Doç. Dr. İsmail BAYRAKLI sorumluluğunda yapılması planlanan ve aşağıda bilgileri verilen çalışma başvuru dosyası ilgili mevzuat gereğince incelenmiş olup;

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 02.01.2013 tarih ve 4 sayılı kararında uygun bulunduğu bildirilen çalışmanın, Bakanlık evrak giriş 29.11.2012 tarih ve 139826 sayılı yazı ekinde belirtilen merkezlerde başlaması uygun bulunmuştur.

Araştırmanın Adı :	Yeni Nefes Moleküllerinin Araştırılması ve Nefes Analizi İçin Lazer Temelli Biyomedikal Gaz Sensörlerinin Tasarımı, Geliştirilmesi Ve Kullanılması
Koordinatör Merkez:	Süleyman Demirel Üniversitesi Teknoloji Fakültesi Biyomedikal Mühendisliği
Koordinatör /Sorumlu Araştırmacı:	Yrd. Doç. Dr. İsmail BAYRAKLI
Araştırma Protokolü tarih ve versiyon numarası	02.01.2013/V:2
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu tarih ve versiyon numarası	02.01.2013/V:2

Ancak, araştırmanın güncel Helsinki Bildirgesi'ne, İyi Klinik Uygulamalar İlkelerine ve ilgili mevzuata uygun olarak yürütülmesi,

Araştırmada kullanılacak tüm ürünlerin ve tetkiklerin destekleyici, destekleyici yoksa araştırmacı tarafından karşılanması,

Gönüllülerden alınacak numuneler ülke dışına çıkarılacaksa, biyolojik materyal transfer formunda belirtilenlerin yerine getirilmesi,

Araştırma ürünü ithal edilecek ise Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumuna müracaat edilmesi,

Araştırma sonunda artan araştırma ürününün imha işlemlerinin ilgili mevzuata göre yapılması,

Araştırmanın başlamaması, iptali veya sonlandırılması halinde tarafımıza bilgi verilmesi,



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu

Araştırma süresince ortaya çıkan advers olayların/etkilerin tarafımıza bildirilmesi gerekmektedir.

Yazımızın bir örneğini katılımcı hekimlere ve ilgili Etik Kurula iletilmesi hususunda bilginizi ve gereğini rica ederim.

Ecz. Güven ARTIRAN
Kurum Başkanı a. Kurum
Başkan Yardımcısı

Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu uyarınca elektronik olarak imzalanmıştır. <https://e-islemler.iegm.gov.tr/eimza/eimzkontrol.aspx> adresinden kontrol edilebilir. **Güvenli Elektronik İmzalı Aslı İle Aynıdır**

Söğütözü Mahallesi,2176.Sokak No:5 06520 Çankaya/ANKARA Tel: (0 312)218 30 00- Faks : (0 312)218 32 96 www.iegm.gov.tr

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Hatice AKMAN
Doğum Yeri ve Yılı : Senirkent, 1982
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : haticeakman@sdu.edu.tr

Eğitim Durumu

Lise : Isparta Süleyman Demirel Fen Lisesi
Lisans : Gazi Üniversitesi, Elektrik Elektronik Müh.
Yüksek Lisans :SDÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elektronik Haberleşme Müh.

Mesleki Deneyim

Türk Telekom, Uzm. Yrd. (ISPARTA)	2008-2012
MAKÜ-SBMYO, Öğr. Gör. (BURDUR)	2012-2013
SDÜ, Biyomedikal Müh. Araş. Gör. (ISPARTA)	2013-... (halen)

Yayımları

Alanında, yurtdışında yayımlanan kitapta bölüm ve ünite yazarlığı

Nazıroğlu M, Akman H. (2013) Effects of cellular phone and Wi-Fi-induced electromagnetic radiation on oxidative stress and molecular pathways in brain. I Laher (Editor). "Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants, Springer-Verlag

SCI, SSCI ve AHCI tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayınlar dışındaki makale

Akman, H. Bayrakli, I., Kutluhan S., (2017). Investigation of correlation between neurological diseases and breath molekuls. Journal of Breath Research (Submitted)

Bayrakli, I., Öztürk, Ö., Akman, H. (2016). Investigation of acetone, butanol, and carbon dioxide as new breath biomarkers for convenient and non-invasive diagnosis of obstructive sleep apnea syndrome. Biomedical Chromatography, 30(12), 1890–1899 (2016).

Bayrakli, I., Turkmen, A., Akman, H., Sezer, M. T., Kutluhan, S. (2016). Applications of external cavity diode laser-based technique to noninvasive clinical diagnosis using expired breath ammonia analysis: chronic kidney disease, epilepsy. Journal of Biomedical Optics, 21(8), 087004-8 (2016).

Bayrakli, I., Akman, H. (2015). Ultrasensitive, real-time analysis of biomarkers in breath using tunable external cavity laser and off-axis cavity-enhanced absorption spectroscopy. Journal of biomedical optics, 20(3), 037001-8 (2015).

Ulusal toplantıda sunularak tam metin olarak yayımlanan bildiri

Bayraklı, İ., Akman, H., Türkmen, A. (2015). Hastaların Teşhisi İçin Nefes Analizi. Tıp Teknolojileri Ulusal Kongresi, Bodrum, Vogue 15-18 Ekim, 15(18).

Akman, H., Türker, G. F., Akman, H. (2013). Türkiye’deWi-Max Kullanımının Değerlendirilmesi. Akademik Bilişim Sempozyumu 2013, Antalya.

Cengiz, Y., Güneş, F., Tokat, H., (2008), Tabu Arama Algoritması ile Genişbandlı Mikrodalga Kuvvetlendirici Tasarımı, ASYU 2008 Akıllı Sistemlerde Yenilikler ve Uygulamaları Sempozyumu, 19-21 Haziran 2008 Isparta, 241-244.

Cengiz, Y., Güneş, F., Tokat, H., (2008), Lineer Anten Geometrisinin Tabu Arama Algoritması ve Memetik Algoritma ile Sentezi, ASYU 2008 Akıllı

Sistemlerde Yenilikler ve Uygulamaları Sempozyumu, 19-21 Haziran 2008 Isparta, 237-240.

Tokat, H., Cengiz, Y., Yücel, F., Toprak, İ.B., (2008), Lineer Dizi Anten Geometrisinin Yapay Bağışıklık Sistemi ile Tasarımı, URSI- (International Union of Radio Science) Türkiye Ulusal Komitesi IV. URSI-Türkiye Bilimsel Kongresi, 20-22 Ekim, Antalya, s.158-161.

Uluslararası toplantıda sunularak tam metin olarak yayımlanan bildiri

Bayraklı, İ., Akman, H. (2015). Breath analysis with photoacoustic spectrometer. Global Journal on Technology.

Cengiz, Y., Tokat, H., (2009) Design of a Patch Antenna with Integration Cellular Automata and Genetic Algorithm", Progress In Electromagnetics Research Symposium, Beijing, China, March 23-27, pp. 455-460

Ulusal toplantıda sunularak özet metin olarak yayımlanan bildiri

Bayraklı, İ., Akman, H., Türkmen, A. (2015). Hastaların Teşhisi İçin Nefes Analizi Breath Analysis To Diagnose Diseases, 15(18). Tıp Teknolojileri Ulusal Kongresi, Bodrum, Vogue.

Akman, H., Bayraklı, İ., (2014). Uyku Apnesi Sendromu Hastalığının Nefes Analizi ile Teşhisi", Tıp Teknolojileri Ulusal Kongresi, Kapadokya, 25-27 Eylül 2014.

Bayraklı, İ., Akman, H., (2014). Nefes Analizleri için Lazer-Temelli Biyomedikal Gaz Sensörlerinin Geliştirilmesi , Tıp Teknolojileri Ulusal Kongresi, Kapadokya, 25-27 Eylül

SCI, SSCI ve AHCI dışındaki indeks ve özetler tarafından taranan dergilerde yayımlanan teknik not, editöre mektup, tartışma, vaka takdimi ve özet türünden yayın

Cengiz, Y., Tokat, H., (2008), Linear Antenna Array Design With Use Of Genetic, Memetic And Tabu Search Optimization Algorithms, Progress In Electromagnetics Research C, Vol, 1, 63-72.

Ulusal kuruluşlarca desteklenen projede görev alma

TÜBİTAK (1001) tarafından desteklenen "Yeni Nefes Moleküllerinin Araştırılması ve Nefes Analizi için Lazer Temelli Biyomedikal Gaz Sensörlerinin Tasarımı, Geliştirilmesi ve Kullanımı" projesinde bursiyer (2013-2015) (Tamamlandı)

3917-D2-14 nolu SDÜ BAP Doktora projesi "PID Denetleyicileri ile Frekansı Kararlılaştırılmış Lazer Temelli Biyomedikal Gaz Sensörleri ve GC/MS İle Hastalıkların Teşhisi İçin Nefes Analizi" (2014-2017).

Ulusal kuruluşlarca desteklenen proje yürütücülüğü

Teknogirişim Sermaye Desteği, Diyabetik Hastalarda Periferik Nöropatiye Bağlı Gelişen Ayak Yaralarının Tedavisi Amaçlı MR-CT DICOM Dataları Kullanılarak 3D Print Yöntemi İle Kişiyeye Özel Total Contact Cast Yapımı (2015-2016) (Tamamlandı)