BY-NC-ND

https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-16-212-223

Обзорная статья / Review article

Диссертант

Маркеры воспаления в конденсате выдыхаемого воздуха при бронхиальной астме

С.Ю. Терещенко, https://orcid.org/0000-0002-1605-7859, legise@mail.ru
М.А. Малинчик, https://orcid.org/0000-0002-6350-8616, seapearl1995@gmail.com
М.В. Смольникова✉**,** https://orcid.org/0000-0001-9984-2029, smarinv@yandex.ru
Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г

Резюме
Хронические заболевания органов дыхания относятся к числу наиболее распространенных неинфекционных заболеваний. В частности, бронхиальная астма (БА), характеризующаяся гиперреактивностью бронхов и различной степенью обструкции дыхательных путей, является причиной заболеваемости и смертности. Доступные на сегодня методы получения информации о наличии воспаления в дыхательных путях, таких как бронхоскопия и биопсия бронхов, инвазивны и затруднительны в повседневной клинической практике, особенно для детей и тяжелобольных пациентов. В связи с этим в последнее время наблюдается рост разработок неинвазивных методов диагностики респираторной системы, комфортных и безболезненных для испытуемых, в особенности детей, а также позволяющих контролировать воспалительные процессы в легких, оценивать тяжесть течения заболевания и наблюдать за процессом лечения. Наибольшее внимание привлекает конденсат выдыхаемого воздуха (КВВ), являющийся источником различных биологических молекул, включая оксид азота (NO), лейкотриены, 8-изопростан, простагландины и др., локально или системно связанных с болезненными процессами в организме. Особый интерес вызывает присутствие в КВВ цитокинов – специфических белков, вырабатываемых различными клетками организма, играющих ключевую роль в воспалительных процессах при БА и осуществляющих связь между клетками (цитокиновая сеть). Так, при использовании анализа КВВ становится возможным оценивать степень тяжести и уровень контроля детской БА. Кроме того, неинвазивность данного метода позволяет многократно использовать его для мониторинга легочных заболеваний даже самых маленьких пациентов, в т. ч. младенцев. Таким образом, область анализа метаболитов в КВВ растет, и, вероятно, в ближайшем будущем этот метод будет наиболее распространенным для диагностики заболеваний дыхательной системы как у детей, так и у взрослых.

Ключевые слова: конденсат выдыхаемого воздуха, бронхиальная астма, цитокины, воспаление, неинвазивная диагностика, дети

Для цитирования: Терещенко С.Ю., Малинчик М.А., Смольникова М.В. Маркеры воспаления в конденсате выдыхаемого воздуха при бронхиальной астме. *Медицинский совет*. 2021;(16):212–223. https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-16-212-223.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Inflammatory markers in exhaled breath condensate in bronchial asthma

Sergey Yu. Tereshchenko, https://orcid.org/0000-0002-1605-7859, legise@mail.ru
Marina A. Malinchik, https://orcid.org/0000-0002-6350-8616, seapearl1995@gmail.com
Marina V. Smolnikova✉**,** https://orcid.org/0000-0001-9984-2029, smarinv@yandex.ru
Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 3G, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia

Abstract
Chronic respiratory diseases are among the most common non- infection diseases. In particular, it is bronchial asthma (BA), characterized by bronchial hyperreactivity and varying degrees of airway obstruction that is the cause of morbidity and mortality. The methods available for the information about the presence of inflammation in the airways, such as bronchoscopy and bronchial biopsy to be obtained have currently been invasive and difficult in everyday clinical practice, especially for children and seriously ill patients. In this regard, recently there has been an increase in the development of non-invasive methods for diagnosing the respiratory system, being comfortable and painless for trial subjects, especially children, also providing the inflammatory process control in the lungs, the severity assessment and monitoring the treatment process. The exhaled breath condensate (EBC) is of great attention, which is a source of various biomolecules, including nitric oxide (NO), leukotrienes, 8-isoprostane, prostaglandins, etc., being locally or systemically associated with disease processes in the body. Of particular interest is the presence of cytokines in EBC, namely the specific proteins produced by various cells of the body that play a key role in inflammatory processes in AD and provide cell communication (cytokine network). Thereby, it becomes possible for the severity and control level of childhood bronchial asthma using only the EBC analysis to be assessed. In addition, the non-invasiveness of this method allows it to be reused for monitoring lung diseases of even the smallest patients, including infants. Thus, the field of metabolite analy-

© Терещенко С.Ю., Малинчик М.А., Смольникова М.В., 2021

sis in EBC has been developing and, in the near future, the given method is likely to be the most common for diagnosing the respiratory system diseases in both children and adults.

Keywords: exhaled breath condensate, bronchial asthma, cytokines, inflammation, non-invasive diagnostics, children

For citation: Tereshchenko S.Yu., Malinchik M.A., Smolnikova M.V. Inflammatory markers in exhaled breath condensate in bronchial asthma. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2021;(16):212–223. (In Russ.) https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-16-212-223.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Современная педиатрическая пульмонология стремится своевременно диагностировать заболевания легких у детей разного возраста [1]. Исследование состояния респираторного тракта, а также характеристика местного воспаления имеют важное значение в диагностике, основой которой является персонализированный подход, включающий в себя оценку наличия и степени выраженности/контроля локального воспаления [2]. Этим и объясняется расширяющийся арсенал диагностических методик для оценки функций внешнего дыхания, а также для изучения биомаркеров состояния респираторного тракта.

К традиционным методам оценки внешнего дыхания относятся пневмотахометрия, спирометрия, а также различные тесты на выявление бронхиальной гиперреактивности и бронхолитические пробы для выявления обратимости вентиляционных нарушений. Данные методики имеют целый ряд ограничений: недостаточная кооперативность с пациентом, недостаточная чувствительность и специфичность и, к сожалению, возрастные ограничения. С появлением ультразвуковых технологий стало возможным проведение высокоточной спирометрии с минимальным риском инфицирования пациентов [1, 3].

Для характеристики локального воспаления в респираторной системе используется исследование клеточного состава секретов дыхательных путей, нелетучих медиаторов и маркеров воспаления. Это, в свою очередь, требует проведения методов различной степени инвазивности, таких как оценка бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), трахеального аспирата, изучение индуцированной мокроты и др. Данные методики хорошо стандартизованы, высокопроизводимы, но имеют ряд ограничений: требуют специальной подготовки персонала, имеют ограниченное использование в амбулаторной практике, их нельзя проводить повторно через короткий промежуток времени, а также имеют противопоказания к проведению у тяжелобольных детей. Даже такой малоинвазивный метод, как анализ индуцированной мокроты, может привести к бронхоконстрикции из-за ингаляции гипертонического раствора хлорида натрия [2, 4].

В последнее время в педиатрической пульмонологии активно изучается возможность применения различных неинвазивных методов исследования локального воспаления респираторного тракта. К ним относится так называемый анализ выдыхаемого воздуха и его конденсата [2]. Этот метод открывает новые перспективы для исследования выдыхаемого воздуха, а также неинвазивной диагностики заболеваний органов дыхания [4]. Конденсат выдыхаемого воздуха (КВВ) является продуктом небулизации турбулентным воздушным потоком тонкого слоя жидкости, непосредственно выстилающего эпителиальный слой дыхательных путей.

КОНДЕНСАТ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА И ПРЕИМУЩЕСТВА ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗОВ

Анализ КВВ является неинвазивным методом изучения состава жидкости в слизистой оболочке дыхательных путей и обладает потенциалом для оценки воспаления легких [5]. Метод получения и исследования КВВ фактически приравнивается к неинвазивной биопсии бронхов с возможностью всесторонней оценки состояния метаболизма и иммунного статуса респираторного тракта.

Анализ КВВ позволяет оценить активность воспаления в легких и уточнить состояние местного воспаления в дыхательных путях, а также оценить роль цитокинов в нем [4]. КВВ образуется из водяного пара, а в его состав входят аэрозольные частицы, в которых у здоровых людей обнаруживаются некоторые биомолекулы, включая лейкотриены, 8-изопростан, простагландины, перекись водорода, продукты, полученные из оксида азота, и ионы водорода. Определение селективных профилей биомаркеров заболеваний легких также может иметь диагностическое значение у пациентов с различными заболеваниями легких [5].

Впервые исследования по выявлению поверхностно-активных свойств КВВ были проведены в нашей стране Г.И. Сидоренко и др. в 1980-х гг.: ученые разработали устройство, собирающее конденсат при обычном дыхании человека, снизив до минимума загрязнение его слюной. Авторами были проведены исследования по идентификации летучих субстанций, в частности оксида азота [6]. Стремительное нарастание количества опубликованных работ в области изучения КВВ произошло с начала 2000-х гг., особенно после 2005 г., когда были опубликованы рекомендации Европейской респираторной ассоциации по стандартизации методических подходов сбора и анализа КВВ [7].

Метод анализа КВВ обладает рядом преимуществ перед другими способами оценки респираторной системы:

- Метод является полностью неинвазивным, что особенно важно для детей;
- Возможно использование в любом возрасте, включая новорожденных;
- Возможно использование у пациентов в состоянии любой тяжести, в т. ч. у детей с дыхательной недостаточностью (одышкой) и находящихся на искусственной вентиляции легких;

- Возможны неоднократные измерения в течение дня, до и после нагрузочных тестов;
- Метод позволяет оценить непосредственный локальный метаболический и иммунный профили респираторного тракта, в отличие системных маркеров, определяемых в периферической крови или в моче;
- Процедура сбора конденсата проводится при спокойном дыхании пациента, занимает всего 10–15 мин, физиологична и не ассоциирована с каким-либо воздействием на респираторный тракт, провоцирующим воспалительную реакцию и искажающим метаболическую картину (в отличие от бронхоскопии и метода индукции мокроты);
- Современные приборы позволяют собрать достаточное количество конденсата, чтобы одновременно оценить большое количество маркеров.

При этом у метода имеются и определенные недостатки:

- необходимость строгого соблюдения стандартизированных подходов (подробно изложены в рекомендациях Европейского респираторного общества);
- низкие концентрации биологически активных веществ вследствие разведения, что требует специальных методов хранения образцов и более точных аналитических методов [7].

Эталонные аналитические методы необходимы для предоставления убедительных доказательств присутствия некоторых медиаторов воспаления в КВВ и для их точной количественной оценки в этой биологической жидкости [5].

Впрочем, эти недостатки преодолимы. Для сбора КВВ должны строго соблюдаться рекомендации Европейской респираторной ассоциации (в отношении окружающей температуры, подготовки пациента и т. д.) и должно использоваться специально разработанное оборудование, которое позволяет:

- строго соблюдать рекомендации в отношении температуры коллектора;
- собирать достаточное количество КВВ без контаминации слюной;
- рассчитывать объем воздушного потока, прошедшего через конденсат с целью дальнейшей нормализации показателей по объему потока;
- уменьшить возможную абсорбцию биологических веществ полимерами воздушного контура.

Кроме того, необходимо анализировать пробы на достаточное содержание эпителиальной жидкости, степень разведения для нелетучих компонентов и наличие контаминации слюной путем определения в пробе протеина сурфактанта А (SP-A), мочевины и амилазы. Наконец, для повышения аналитической точности крайне желательны хранение образцов при низкотемпературных условиях (–80 °С) и применение высокоточных методов с высокой чувствительностью, например использование мультиплексных систем с использованием проточной цитофлюориметрии. В НИИ медицинских проблем Севера (Красноярск) авторами проводятся исследования КВВ от детей с соблюдением указанных требований с использованием системы мультиплексного анализа MagPix (Luminex, USA). Нами получены первые результаты при использовании чувствительной панели Human High Sensitivity T Cell 21 plex kit (Merck Millipore, USA) (данные не опубликованы).

К настоящему времени проведено большое количество исследований в отношении очень широкого спектра маркеров в КВВ при таких заболеваниях у взрослых и детей, как бронхиальная астма (БА) [8], обструктивные заболевания легких, включая хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ) [9], рак легких [10], муковисцидоз [11] и др.

Основные усилия исследователей в отношении анализа КВВ до настоящего времени были сосредоточены на изучении таких параметров, как:

- pH полученной жидкости: было установлено, что снижение pH характерно для многих патологических процессов респираторного тракта, сопровождающихся кашлем, бронхиальной обструкцией, диспноэ и апноэ – БА, ХОБЛ, воздействия загрязняющих поллютантов, синдрома апноэ сна;
- метаболиты оксидативного стресса (перекись водорода, L-лактат, аденозин и продукты метаболического пути оксида азота): изучены достаточно подробно при многих заболеваниях, сопровождающихся острым и персистирующим воспалением и гипоксией; клиническое применение затруднено в связи с низкой специфичностью выявляемых изменений;
- метаболиты арахидоновой кислоты (лейкотриены, простагландины, тромбоксаны, 8-изопростан): изменения концентраций этих липидных медиаторов воспаления найдены при многих заболеваниях, однако указанные метаболиты часто были изменены при наличии персистирующего аллергического воспаления респираторного тракта;
- цитокиновый статус: большое количество цитокинов было идентифицировано в КВВ (интерлейкин (IL) 1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN-γ, TGF-β, и TNF-α) у взрослых и детей в концентрациях около 50 пг/мл, однако их точная клиническая роль при отдельных респираторных нозологиях в настоящее время точно не установлена и является предметом изучения большого количества текущих исследовательских проектов.

УСТРОЙСТВА ДЛЯ СБОРА КОНДЕНСАТА ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА

Как уже отмечалось, интерес к КВВ связан прежде всего с простотой сбора информации практически в любых условиях. Сбор КВВ – это простая неинвазивная техника, требующая только тихого дыхания пациента через систему охлаждения выдыхаемого воздуха. Используя зажим для носа, пациент спокойно дышит в течение 10 мин через специальный мундштук с прикрепленной ловушкой для слюны и односторонним клапаном, отводя выдыхаемый поток воздуха через тефлоновую или полипропиленовую трубку внутри охлаждающего контейнера, в котором выдыхаемый воздух в виде капель превращается в КВВ [7, 12].

КВВ получают путем охлаждения выдыхаемого воздуха. В наше время для этого используют коммерческие

устройства: EcoScreen (VIASYS Healthcare device), RTube (Respiratory Research), ANACON (Biostec), а также устройства, непосредственно собранные в лабораториях (handmade). Большинство руководств по стандартизации методов получения конденсата рекомендуют получать его при спокойном дыхании, используя носовые зажимы, удаляя слюну, а также определяя температуру охлаждения и время сбора конденсата [13]. Коммерчески доступными устройствами являются EcoScreen, RTube и ANACON.

Устройство EcoScreen электрически охлаждает выдыхаемый воздух, проходящий через пластинчатую систему с двойным просветом из алюминия с покрытием PFTE. КВВ затем собирается в одноразовой полипропиленовой сборной чашке (приблизительно при –10 °С). Устройство EcoScreen 1 широко использовалось в протоколах исследований. Однако в настоящее время оно не используется из-за ряда технических недостатков, в т. ч. из-за отсутствия ручного контроля температуры конденсации и требований к очистке устройства между последующими испытаниями [14]. Поэтому EcoScreen 1 был заменен устройством EcoScreen 2, которое позволяет фракционировать сбор КВВ из разных областей бронхиального дерева в два одноразовых полиэтиленовых пакета, так что конденсат мертвого пространства, который содержит биомаркеры, не имеющие клинического значения, может быть отброшен. EcoScreen 1 и 2 имеют большую массу (20 кг), и их сложно транспортировать. В настоящее время используется EcoScreen 2 (Jaeger Tonnies, Hoechberg, Germany). Этот конденсатор позволяет измерять ряд параметров дыхания при сборе КВВ и может быть подключен к пневмотахографу и компьютеру для их онлайн-регистрации [15]. Это устройство может быть полезно для изучения происхождения биомаркеров в отделах легких (дыхательные пути против альвеол).

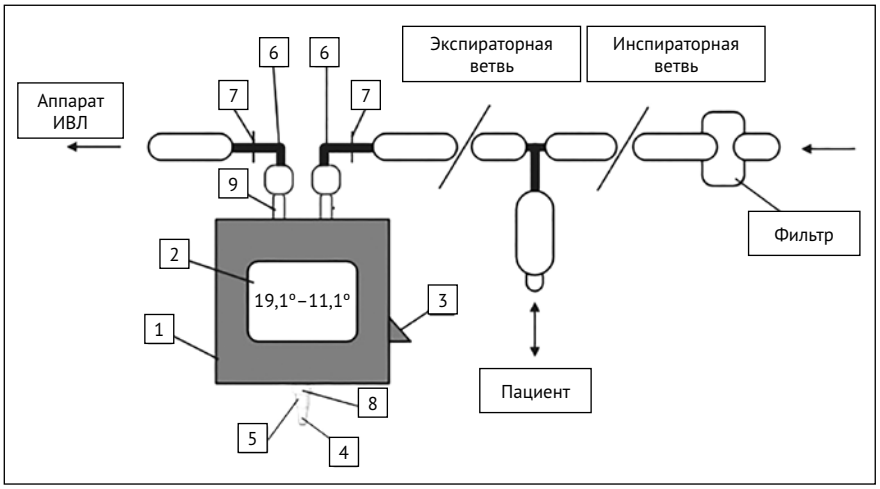
RTube (Respiratory Research, Inc., Charlottesville, USA) – еще один коммерчески доступный конденсатор, который имеет преимущество портативности [16], может использоваться в домашних условиях: это особенно подходит для продольных исследований или когда требуется сбор нескольких образцов в день. Система одноразового сбора RTube состоит из большой секции тройника (из полипропилена (PP)), которая отделяет слюну от выдыхаемого воздуха, одностороннего клапана (из силиконовой резины) и трубки для сбора PP, которая охлаждается охлаждающей втулкой, расположенной вокруг. RTube был первоначально изготовлен для измерения pH в образцах КВВ, но его можно использовать для измерения других соединений [16]. Образец КВВ в полипропиленовой пробирке можно хранить в морозильной камере дома; достаточный объем КВВ для измерения pH может быть собран всего за 1 мин [16]. Тем не менее RTube имеет некоторые ограничения, так как образцы КВВ необходимо доставить в лабораторию для биохимических анализов, а условия хранения в морозильной камере дома (–20 °С) отличаются от тех, которые требуются для некоторых химически нестабильных медиаторов, которые необходимо хранить при –80 °С [16]. Более того, по сравнению с RTube, сбор выдыхаемого воздуха с помощью EcoScreen позволяет собирать большие объемы и обнаруживать белковые и липидные медиаторы с большей чувствительностью, что может быть связано с различиями в температуре сбора.

Конденсатор ANACON (схема показана на *рис. 1*) использовался многими исследовательскими группами, особенно у пациентов с механической вентиляцией легких [12, 17]. Это конденсирующее устройство может быть прикреплено к ветви выдоха вентиляционного контура. Температура конденсации постоянно контролируется в пределах от –15 до –5 °С. Через 10 мин спокойного дыхания у взрослых пациентов собирают 1–3 мл КВВ. Продолжительность сбора варьируется от 10 до 30 мин, но может достигать и 60 мин [7].

Поскольку основной целью сбора КВВ является обнаружение соединений, поступающих из нижних дыхательных путей, необходимо исключение загрязнения образца медиаторами и белками, происходящими из слюны, полости рта и верхних дыхательных путей [18]. Загрязнения КВВ можно избежать с помощью различных методов, включая ловушку для слюны, трубку в форме лебедя, бикарбонат натрия (4,5%) для полоскания рта перед отбором проб и периодическое глотание субъектом во время сбора КВВ [7, 19]. Собранный КВВ должен подвергаться мгновенному анализу или храниться при –70 °С. Продолжительность хранения определяется временем стабильности соответствующих химических соединений. Кроме того, следует избегать повторяющихся циклов замораживания-размораживания, поскольку эта процедура приводит к потере нестабильных химических соединений [20].

Рисунок 1. Схема работы конденсатора ANACON

Figure 1. Scheme of the ANACON condenser work



1 – корпус конденсатора; 2 – термометр; 3 – переключатель охлаждения; 4 – трубка для сбора КВВ; 5 – Y-образный патрубок; 6 – эластомерные соединители; 7 – адаптер; 8 – трубки конденсации.

МЕДИАТОРЫ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ АСТМЕ, ОПРЕДЕЛЯЕМЫЕ В КОНДЕНСАТЕ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА

БА является комплексным хроническим воспалительным заболеванием с вовлечением многих структурных клеток и клеток воспаления с высвобождением медиаторов воспаления и, как результат, патофизиологических изменений. Анализ КВВ является все более используемым и многообещающим методом в исследованиях патогенеза БА, поскольку в КВВ можно измерить большое количество медиаторов воспаления. Это простой, хорошо переносимый и безопасный метод, в т. ч. у детей с тяжелой формой астмы, и он выполним у 100% детей старше 4 лет.

Для анализа КВВ доступны различные методы, позволяющие детектировать разные соединения. Коммерческие наборы ELISA имеют низкую чувствительность и специфичность, так как они не ориентированы на обнаружение соединений в чрезвычайно низких концентрациях, выявленных в КВВ. Кроме того, сам КВВ не является подходящей матрицей для таких коммерческих наборов [21]. В связи с этим зачастую используются и другие традиционные методы, включая спектрофотометрию, спектрофлуориметрию, ферментативные методы, а также методы иммуноанализа, такие как радиоиммуноанализ (RIA), иммунные сенсоры и множественный иммуноанализ (мультиплекс) [5, 22, 23].

Однако анализ, основанный на таких методах, должен быть подтвержден использованием таких аналитических методов, как масс-спектрометрия и высокоэффективная жидкостная хроматография, способных обеспечить количественный анализ соединений КВВ [6]. Недавно введенные методы, такие как двухмерный электрофорез в белковых гелях с последующим хроматографическим протеомным микроанализом, способны обеспечить как качественный, так и количественный анализ КВВ. Современные хроматографические методы включают газовую хроматографию (ГХ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), масс-спектрометрию (МС) и комбинации вышеуказанных методов [24, 25]. Кроме этого, лиофилиоз, который требует высыхания образца, достигаемого путем охлаждения, обеспечивает концентрацию как летучих, так и полулетучих соединений, а также удаление летучих соединений, таких как аммиак (NH_3) [26]. Лиофилизированный КВВ дает 20-кратную концентрацию биомаркеров по сравнению с другими методами, упомянутыми выше [21].

В последние годы список медиаторов, которые можно определить в КВВ, неуклонно растет [1, 13, 27]. КВВ может содержать как летучие соединения, например NO, так и тяжелые нелетучие вещества, такие как белки, медиаторы воспаления, цитокины, оксиданты, H_2O_2, нитраты, нитриты и др. [27, 28]. Как известно, КВВ не содержит клеток, но, несмотря на это, в его составе присутствуют различные биологически активные вещества, продуцируемые клеточными элементами слизистой оболочки дыхательных путей, причем в большом количестве. К тому же в КВВ исследуются различные мутации ДНК [29].

Были также выделены некоторые источники происхождения компонентов КВВ в дыхательной системе: альвеолярная мембрана ответственна за продукцию белков сурфактантов, центральные и периферические дыхательные пути – за простагландины и цитокины (*рис. 2*). Однако точный вклад различных отделов респираторной системы в КВВ требует дальнейшего изучения.

Отбор проб КВВ выполняется с тремя основными целями:

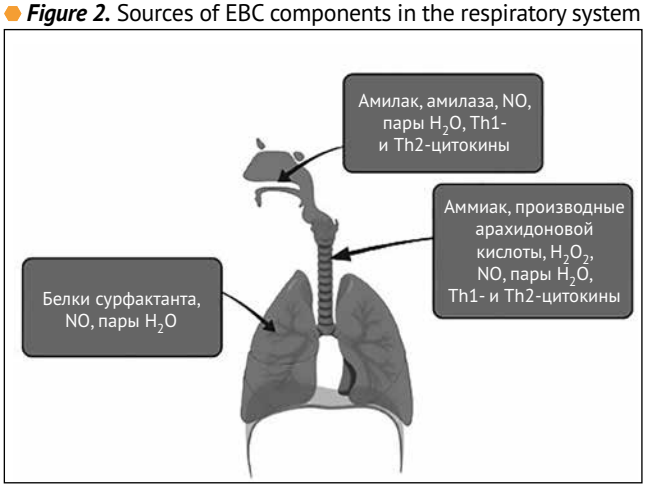
1) узнать больше о патологических механизмах заболеваний дыхательных путей путем выявления изменений в уровнях медиаторов;
2) узнать больше о составе жидкости дыхательных путей;
3) использовать определенные медиаторы в качестве выдыхаемых биомаркеров заболеваний дыхательных путей.

Пероксид водорода

Различные маркеры воспаления, присутствующие в КВВ, были исследованы в качестве возможных биомаркеров активности БА. Наиболее изученным маркером является перекись водорода (H_2O_2), которая образуется после превращения супероксидных анионов O_2^- в H_2O_2 с помощью фермента супероксиддисмутазы и может высвобождаться как из воспалительных, так и из структурных клеток [30, 31]. H_2O_2 – летучая молекула и в КВВ нестабильна, поэтому ее следует быстро замораживать после сбора и хранить при –70 °С до определения концентрации пероксида. Одними из вариантов решения проблемы нестабильности являются добавление реагентов для анализа сразу после сбора КВВ и хранение стабильного продукта реакции в замороженном виде вплоть до измерения [32].

Как и у взрослых, уровни H_2O_2 у детей повышаются в КВВ со стабильной астмой по сравнению со здоровыми контролями [33]. Важно отметить, что уровни H_2O_2 коррелировали с клиническими симптомами и были ниже у детей, получавших противовоспалительные препараты [32]. Следовательно, представляется, что H_2O_2 в выдыхаемом воздухе может быть простым и полезным биомаркером воспаления дыхательных путей у детей и взрослых, страдающих астмой, особенно при мониторинге лечебного действия противовоспалительных препаратов.

Рисунок 2. Источники компонентов КВВ в дыхательной системе
Figure 2. Sources of EBC components in the respiratory system



Нитротирозин

Другие медиаторы воспаления также привлекли внимание в качестве полезных биомаркеров у пациентов с астмой. T. Hanazawa et al. сравнили в КВВ уровни нитротирозина, стабильного конечного продукта окисления пероксинитрита, у пациентов с астмой [34]. Пациенты имели легкую, умеренную (при вдыхании кортикостероида) или тяжелую (при пероральном приеме кортикостероида) астму. Уровни выдыхаемого нитротирозина были повышены у пациентов с кортикостероидной, легкой формой астмы по сравнению с контрольными субъектами, но не у пациентов с умеренной или тяжелой формами астмы, получавших терапию кортикостероидами [35].

Изопростаны

Изопростаны, соединения, которые в основном образуются в результате неферментативного перекисного окисления мембранных фосфолипидов (арахидоновой кислоты) во время окислительного стресса, также были исследованы как биомаркеры воспаления в КВВ у пациентов с астмой [36, 37]. Они относительно стабильны и специфичны для перекисного окисления липидов, что делает их потенциально надежными биомаркерами для окислительного стресса. Исследование, проведенное на пациентах с легкой, средней или тяжелой формами астмы, выявило повышенные уровни 8-изопростана по сравнению с нормальными добровольцами. Более чувствительным и специфичным методом анализа изопростана в КВВ является газовая хроматография [38].

Лейкотриены

Хорошо известно, что лейкотриены играют важную роль в патофизиологии астмы, в частности вызывая сокращение гладких мышц дыхательных путей, утечку микрососудов и гиперсекрецию слизи. Cys-LT (лейкотриен (LT) C4, LTD4, LT4) высвобождаются из воспалительных клеток дыхательных путей, в частности тучных клеток и эозинофилов, и играют роль в воспалении астматических дыхательных путей. Исследования показывают повышенный уровень цистеинил-лейкотриенов и LTB4 в КВВ у пациентов с астмой по сравнению со здоровыми контролями [34]. Уровень лейкотриенов повышается с тяжестью астмы. Кроме того, повышенная концентрация Cys-LT, обнаруженная во время обострений у детей-астматиков, значительно снижается после лечения преднизоном [39].

Эотаксин и RANTES

Эозинофилия дыхательных путей считается центральным событием в патогенезе астмы. Эотаксин и RANTES играют ключевую роль в селективном накоплении эозинофилов в дыхательных путях и, следовательно, в их активации и дегрануляции [40]. Уровни эотаксина были выше в жидкости БАЛ, мокроте и КВВ, полученных от астматиков, чем в здоровых контролях [41]. Уровни эотаксина-1 были повышены у пациентов с нестабильной астмой, лечившихся ингаляционными кортикостероидами (ICS), по сравнению со стабильными пациентами, лечившимися ICS и страдающими стероидной астмой [41].

RANTES – биомаркер, который отслеживает активность БА и, следовательно, может предсказать клинический исход. Уровни RANTES в КВВ у пациентов с астмой выше, чем у здоровых людей. У пациентов с нестабильной астмой уровни RANTES значительно выше, чем у пациентов, не получающих стероиды, и у пациентов, получающих ICS, со стабильной астмой [42]. Авторы предположили, что у больных астмой легкой и средней степени тяжести, получавших ICS, уровень RANTES значительно ниже по сравнению с пациентами с легкой аллергической астмой, не получающими стероиды. Это может свидетельствовать о положительном эффекте лечения ICS в подавлении RANTES в дыхательных путях. Выражение RANTES достоверно коррелировало с процентным значением FEV1 и значениями сопротивления дыхательных путей [38].

Матриксная металлопротеиназа-9

Ремоделирование дыхательных путей характерно для астмы, и данные, полученные от взрослых пациентов с астмой, позволили выявить физиологические различия как в эпителиальных клетках бронхов, так и в клетках гладких мышц дыхательных путей, что позволяет предположить, что ремоделирование дыхательных путей происходит в воспалительных клетках. Матриксная металлопротеиназа-9 (MMP-9), отвечающая за ремоделирование дыхательных путей, происходит из различных воспалительных клеток, таких как эпителиальные клетки бронхов, тучные клетки, эозинофилы и макрофаги и особенно нейтрофилы [43, 44]. Уровни MMP-9 в образцах КВВ, полученных от пациентов с атопической и неатопической астмой, оказались схожими, что свидетельствует о том, что уровень повреждения дыхательных путей существенно не отличается у пациентов с атопической и неатопической астмой.

Цитокины

Цитокины действуют подобно мессенджерам как внутри иммунной системы, так и между нею и другими системами организма, образуя интегрированную сеть. Было показано, что комплексная сеть воспалительных цитокинов и хемокинов играет ведущую роль в медиации, усилении и продолжении процессов повреждения легких [45]. Концентрация цитокинов, как и других медиаторов воспаления, опосредована генетическим полиморфизмом. Отдельные аллельные варианты генов цитокинов, локализованные в кодирующей или промоторной зоне, и их генотипы ассоциированы не только с уровнем продукции цитокинов, но и с развитием целого ряда патологий, включая БА [46, 47].

IL-4 является ключевым цитокином, продуцируемым клетками CD4+ Th2, тучными клетками и базофилами. Этот цитокин участвует в патогенезе аллергических заболеваний и в ремоделировании дыхательных путей и стимуляции клеток, продуцирующих слизь, его сверхэкспрессия в легких вызывает эозинофильное воспаление без гиперреактивности дыхательных путей [48–50]. Повышение уровня IL-4 в КВВ, преимущественно сопровождаемое

увеличением количества Th2-клеток в дыхательных путях, связано с тяжестью астмы у детей [51]. Таким образом, IL-4 является полезным биомаркером для выявления тяжелой астмы наряду с другими маркерами воспаления, такими как INF-γ, IL-5 и колониестимулирующий фактор гранулоцитов-макрофагов (GM-CSF).

Схожими с IL-4 функциями обладает IL-13, который представляет собой Th2-связанный цитокин, регулирующий воспалительные и иммунные процессы в организме, а также стимулирующий выработку B-клеток и IgE [52, 53]. N. Makieieva et al. обнаружили, что у детей с повторяющимися хрипами концентрация IL-13 в КВВ была увеличена по сравнению со здоровыми детьми из контрольной группы [54].

IL-6 является плейотропным цитокином, оказывает регуляторное воздействие на рост многих клеток и участвует в активации, росте и дифференцировке Т-клеток. IL-6 является типичным провоспалительным цитокином, который, как было установлено, связан с различными воспалительными состояниями или заболеваниями [55]. Уровень IL-6 в сыворотке у пациентов с астмой значительно выше, чем у контрольных субъектов. Повышенный уровень IL-6 предполагает, что местные воспалительные процессы могут играть роль в повышении уровня IL-6 у пациентов с астмой. E. Bucchioni et al. (2003) показали значительное повышение уровня IL-6 в КВВ у пациентов с БА по сравнению со здоровыми субъектами. Это может отражать воспаление дыхательных путей и местные воспалительные эффекты цитокина при ХОБЛ или астме [56].

IL-8, также называемый активирующим нейтрофилы белком I (NAP-I), выполняет основные функции в качестве хемоаттрактанта и активатора нейтрофилов [57]. В ходе некоторых исследований выяснилось, что уровни IL-8 в образцах КВВ у детей с атопической и неатопической астмой показали небольшую разницу между группами, но статистически значимые отличия коснулись астматических и контрольных групп [58].

IL-17A принимает активное участие в патогенезе астмы. Этот цитокин контролирует накопление нейтрофилов, секрецию слизи, мобилизацию макрофагов и реактивность гладких мышц дыхательных путей. K. Matsunaga et al. опубликовали исследование концентраций белка IL-17A в КВВ у пациентов с астмой и здоровых контрольных субъектов. Субъекты были некурящими и не получали лечение глюкокортикоидами. В соответствии с большинством исследований образцов БАЛ и мокроты результаты показали, что белок IL-17A умеренно повышен у пациентов с легкой формой астмы по сравнению со здоровыми контрольными субъектами. Особый интерес представляет увеличение IL-17A у этих пациентов с астмой, связанное с соответствующим увеличением IL-8, TNF-α иTGF-β, цитокинами, которые связаны с мобилизацией нейтрофилов и клеток Th17. Также представляет интерес тот факт, что не была выявлена тенденция к корреляции между концентрацией выдыхаемого IL-17A и обструкцией дыхательных путей у пациентов с астмой [42, 59].

IL-33 и TSLP были обнаружены в КВВ в количествах, превышающих половину предела обнаружения как у пациентов с астмой, так и у здоровых людей. И IL-33, и TSLP относятся к группе цитокинов, полученных из эпителия. Результаты показывают, что эти два цитокина присутствуют в КВВ у пациентов с БА, и это является стабильным признаком независимо от уровня контроля астмы (контролируемого или неконтролируемого). Оба эпителиальных цитокина являются важными активаторами аллергического воспаления и терапевтическими мишенями при лечении астмы. IL-33 экспрессируется в эпителиальных барьерных тканях. Было показано, что вскоре после воздействия аллергенов или других вредных стимуляторов, таких как загрязняющие вещества или инфекции, IL-33 индуцирует продукцию цитокинов Th2 врожденными лимфоидными клетками группы 2 и вызывает аллергическое воспаление. Благодаря этому ответу IL-33 также называют аларминцитокином. Не было обнаружено различий в уровнях анализируемых цитокинов в КВВ между пациентами с контролируемой и неконтролируемой астмой. Эти данные удивительны, учитывая, что во время обострения астмы вызванное риновирусом воспаление зависит от IL-33. Уровни медиаторов IL-33 и TSLP в КВВ не коррелируют с их сывороточными уровнями, что свидетельствует о том, что локальная эпителиальная реакция не зависит от системной реакции [60].

Цитокины, включая IL-1β [61, 62], фактор некроза опухоли-α (TNF-α) [42, 61, 62], IL-4 [42, 49, 63], IL-5 [64], IL-6 [62], IL-8 [42, 62], IL-10 [62, 63], IL-12p70 [62], интерферон-γ (IFN-γ) [49, 63], были обнаружены в КВВ у пациентов с астмой различной степени тяжести. Однако концентрации цитокинов обычно близки к пределу обнаружения ELISA. При таких концентрациях аналитическая изменчивость высока и достоверность данных сомнительна. Как и в случае других иммуноанализов, из-за различий в составе буфера для анализа и КВВ могут играть роль матричные эффекты [49, 56, 63].

При использовании матрицы мембранных белков на основе хемилюминесценции были обнаружены повышенные уровни экспрессии IL-4, IL-8, IL-17, TNF-α, RANTES, IFN-γ-индуцируемого белка 10, трансформирующего фактора роста-β и воспалительного белка макрофагов 1α и 1β в КВВ у стероидных пациентов с астмой [42].

В одном из исследований C.M.H.H.T. Robroeks et al. ключевым моментом являются высокие показатели обнаружения цитокинов (IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-18, IFN-γ, TNF-α), хемокинов (MIP1a (CCL3), MIF, эотаксина (CCL11), RANTES (CCL5), IP-10 (CXCL10), IL-8 (CXCL8), MCP1) и растворимых молекул адгезии (sICAM, sVCAM) в КВВ с использованием сочетания оптимизированного стеклянного конденсатора и мультиплексного иммуноанализа [63]. Частота обнаружения была близка к 100% для всех воспалительных медиаторов, за исключением эотаксина (CCL11) и RANTES (CCL5). В соответствии с патофизиологией астмы большинство медиаторов были увеличены у детей с астмой по сравнению с контрольной группой. Успешные оценки воспалительных медиаторов в КВВ в данном исследовании могут быть следствием двух факторов: использования метода чувствительного анализа

(мультиплексный иммуноанализ) и сбора КВВ со стеклянным конденсатором. Удалось обнаружить повышенные уровни IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 и IFN-γ у детей с БА. Клетки гладких мышц дыхательных путей секретируют ряд хемокинов, включая MCP, IL-8 (CXCL8) и RANTES (CCL5), и способны рекрутировать и удерживать тучные клетки. Повышенные уровни MCP, IL-8 (CXCL8), RANTES (CCL5) и MIP1a (CCL3) наблюдались в образцах БАЛ пациентов с аллергической астмой, и точно так же повышенные уровни этих медиаторов были обнаружены и в КВВ [63].

С помощью проточной цитометрии IL-2, IL-4, IFN-γ и IL-10 были обнаружены соответственно только в 16, 16, 11 и 9% всех образцов у пациентов с астмой в КВВ с концентрациями, близкими к пределу обнаружения анализа [60]. С использованием мультиплексного иммуноанализа с флуоресцентными гранулами (цитометрическая матрица гранул) было выявлено, что у пациентов в КВВ с острым повреждением легких повышены уровни IL-1β, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α и IL-12p70 по сравнению со здоровыми пациентами [62].

L. Brunetti et al. провели исследование по оценке выдыхаемой концентрации цитокинов, продуцируемых Th1-, Th2- и Т-регуляторными клетками, у детей-астматиков. Было выяснено, что соотношение IL-4/IFN-γ значительно выше у детей с астмой по сравнению с контрольной группой, и также было отмечено, что это соотношение снизилось у пациентов с астмой после применения ингаляционных кортикостероидов. Наблюдалось и увеличение уровней выдыхаемого IL-10 у детей с астмой по сравнению с контрольной группой. IL-10 значительно не увеличился после лечения стероидами. Эти данные свидетельствуют о том, что уровни IL-10 в КВВ отличаются у пациентов с астмой по сравнению со здоровыми детьми, но они являются нечувствительными маркерами при мониторинге терапии с помощью ICS [65].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные в обзоре данные показывают, что исследование КВВ позволяет в любое время получить информацию о патологии легких, не проникая в организм. Преимуществами этого метода являются простота и воспроизводимость, компактность и возможность организации в любых поликлиниках и даже в домашних условиях, сравнение изменений с обнаруженными при использовании традиционных методов (БАЛЖ, индуцированная мокрота), безопасность для слизистой бронхов, отсутствие фактора разведения, имеющих место при проведении бронхоскопии и БАЛ, возможность получения результата при спонтанном дыхании и при механической вентиляции легких, а также доступность для пациентов любого возраста.

К имеющимся на сегодняшний день недостаткам этого метода относится прежде всего отсутствие стандартной методики сбора КВВ, поскольку нет гарантии, что во время конденсации выдыхаемых паров с образующихся капелек жидкости происходит испарение воды. Для правильного получения КВВ аппарат для его сбора следует испытывать с помощью аэрозольных растворов, содержащих известные концентрации определяемых веществ. Требует уточнения и вопрос, из какого именно отдела нижних дыхательных путей происходят аэрозольные частицы. Перечисленные недостатки в исследовании КВВ устранимы. Они указывают на направление будущих разработок этого метода.

БА является одним из самых частых бронхолегочных заболеваний человека во всех возрастных группах. Прогресс в изучении патогенеза БА привел к пониманию значения в развитии заболевания двух факторов – воспаления и гиперреактивности бронхов. Возможность мониторирования указанных составляющих патологического процесса у больных БА неодинакова. Поэтому для оценки состояния больных БА может быть исследован КВВ, который является практически единственным неинвазивным методом исследования для изучения выраженности воспаления при БА, хорошо переносится пациентами, проводится в течение 10 мин и не требует больших материальных затрат, а также содержит различные медиаторы воспаления, играющие огромную роль в патогенезе БА.

Авторы надеются, что представленная систематизация современных данных об анализе метаболитов в КВВ вызовет интерес у широкого круга педиатров, иммунологов и клиницистов и будет способствовать дальнейшему прогрессу в этой области исследований.

Поступила / Received 03.08.2021
Поступила после рецензирования / Revised 20.08.2021
Принята в печать / Accepted 02.09.2021

Список литературы

1. Лукина О.Ф. Современные методы исследования функции легких у детей. *Лечащий врач*. 2003;(3):32–34. Режим доступа: https://www.lvrach.ru/2003/03/4530142.
2. Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. Исследование конденсата выдыхаемого воздуха в пульмонологии (обзор зарубежной литературы). *Пульмонология*. 2002;(2):57–64. Режим доступа: https://journal.pulmonology.ru/pulm/article/view/2113?locale=ru_RU.
3. Савельев Б.П., Ширяева И.С. *Функциональные параметры системы дыхания у детей и подростков. Руководство для врачей*. М.: Медицина; 2001. 232 с. Режим доступа: https://www.combook.ru/product/10027252/.
4. Фурман Е.Г., Корюкина И.П. *Бронхиальная астма у детей: маркеры воспаления и состояние функции внешнего дыхания*. Пермь; 2010. 183 с.
5. Montuschi P. Analysis of Exhaled Breath Condensate in Respiratory Medicine: Methodological Aspects and Potential Clinical Applications. *Ther Adv Respir Dis*. 2007;1(1):5–23. https://doi.org/10.1177/1753465807082373.
6. Сидоренко Г.И., Зборовский Э.И., Левина Д.И. Поверхностно-активные свойства конденсата выдыхаемого воздуха (новый способ исследования функций легких). *Терапевтический архив*. 1980;(3):65–68.
7. Horváth I., Hunt J., Barnes P.J., Alving K., Antczak A., Baraldi E. et al. Exhaled Breath Condensate: Methodological Recommendations and Unresolved Questions. *Eur Respir J*. 2005;26(3):523–548. https://doi.org/10.1183/09031936.05.00029705.
8. Thomas P.S., Lowe A.J., Samarasinghe P., Lodge C.J., Huang Y., Abramson M.J. et al. Exhaled Breath Condensate in Pediatric Asthma: Promising New Advance or Pouring Cold Water on a Lot of Hot Air? A Systematic Review. *Pediatr Pulmonol*. 2013;48(5):419–442. https://doi.org/10.1002/ppul.22776.
9. Tateosian N.L., Costa M.J., Guerrieri D., Barro A., Mazzei J.A., Chuluyan H.E. Inflammatory Mediators in Exhaled Breath Condensate of Healthy Donors And Exacerbated COPD Patients. *Cytokine*. 2012;58(3):361–367. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.03.006.

10. Chen X., Bracht J.R., Goldman A.D., Dolzhenko E., Clay D.M., Swart E.C. et al. The Architecture of a Scrambled Genome Reveals Massive Levels of Genomic Rearrangement during Development. *Cell.* 2014;158(5):1187–1198. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.07.034.
11. Colombo C., Faelli N., Tirelli A.S., Fortunato F., Biffi A., Claut L. et al. Analysis of Inflammatory and Immune Response Biomarkers in Sputum and Exhaled Breath Condensate by a Multi-Parametric Biochip Array in Cystic Fibrosis. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2011;24(2):423–432. https://doi.org/10.1177/039463201102400215.
12. Czebe K., Barta I., Antus B., Valyon M., Horvath I., Kullmann T. Influence of Condensing Equipment and Temperature on Exhaled Breath Condensate pH, Total Protein and Leukotriene Concentrations. *Respir Med.* 2008;102(5):720–725. https://doi.org/10.1016/j.rmed.2007.12.013.
13. Климанов И.А., Соодаева С.К., Лисица А.В., Кудрявцев В.Б., Чучалин А.Г. Стандартизация преаналитического этапа исследования конденсата выдыхаемого воздуха. *Пульмонология.* 2006;(2):53–55. Режим доступа: https://journal.pulmonology.ru/pulm/article/view/1437/1535.
14. Carter S.R., Davis C.S., Kovacs E.J. Exhaled Breath Condensate Collection in the Mechanically Ventilated Patient. *Respir Med.* 2012;106(5):601–613. https://doi.org/10.1016/j.rmed.2012.02.003.
15. Montuschi P., Ragazzoni E., Valente S., Corbo G., Mondino C., Ciappi G., Ciabattoni G. Validation of 8-Isoprostane and Prostaglandin E_2 Measurements in Exhaled Breath Condensate. *Inflamm Res.* 2003;(52):502–507. https://doi.org/10.1007/s00011-003-1212-6.
16. Hunt J. Exhaled Breath Condensate: An Evolving Tool for Non-Invasive Evaluation of Lung Disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;(110):28–34. https://doi.org/10.1067/mai.2002.124966.
17. Romero P.V., Rodrigeuz B., Martinez S., Canizares R., Sepulveda D., Manresa F. Analysis of Oxidative Stress in Exhaled Breath Condensate from Patients with Severe Pulmonary Infections. *Arch Bronconeumol.* 2006;42(3):113–119. (In Spanish). https://doi.org/10.1016/S1579-2129(06)60128-6.
18. Zakrzewski J.T., Barnes N.C., Costello J.F., Piper P.J. Lipid Mediators in Cystic Fibrosis and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am Rev Respir Dis.* 1987;136(3):779–782. https://doi.org/10.1164/ajrccm/136.3.779.
19. Rosias P.P.R., Dompeling E., Hendriks H.J.E., Heijnens J.W.C.M., Donckerwolcke R.A.M.G., Jobsis Q. Exhaled Breath Condensate in Children: Pearls and Pitfalls. *Pediatr Allergy Immunol.* 2004;15(1):4–19. https://doi.org/10.1046/j.0905-6157.2003.00091.x.
20. American Thoracic Society. Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide in Adults and Children – 1999. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(8):912–930. https://doi.org/10.1164/rccm.200406-710ST.
21. Gessner C., Scheibe R., Wötzel M., Hammerschmidt S., Kuhn H., Engelmann L. et al. Exhaled Breath Condensate Cytokine Patterns in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Respir Med.* 2005;99(10):1229–1240. https://doi.org/10.1016/j.rmed.2005.02.041.
22. Effros R.M., Peterson B., Casaburi R., Su J., Dunning M., Torday J. et al. Epithelial lining Fluid Solute Concentrations in Chronic Obstructive Lung Disease Patients Andnormal Subjects. *J Appl Physiol (1985).* 2005;99(4):1286–1292. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00362.2005.
23. Montuschi P. (ed.). *New Perspectives in Monitoring Lung Inflammation. Analysis of Exhaled Breath Condensate.* Boca Raton: CRC Press; 2004. 232 p. https://doi.org/10.3109/9780203022153.
24. Janicka M., Kot-Wasik A., Kot J., Namiesnik J. Isoprostanes-Biomarkers of Lipid Peroxidation: Their Utility in Evaluating Oxidative Stress and Analysis. *Int J Mol Sci.* 2010;11(11):4631–4659. https://doi.org/10.3390/ijms11114631.
25. Glowacka E., Jedynak-Wasowicz U., Sanak M., Lis G. Exhaled Eicosanoid Profiles in Children with Atopic Asthma and Healthy Controls. *Pediatr Pulmonol.* 2013;48(4):324–335. https://doi.org/10.1002/ppul.22615.
26. Effros R.M., Casaburi R., Su J., Dunning M., Torday J., Biller J., Shaker R. The Effects of Volatile Salivary Acids and Bases on Exhaled Breath Condensate pH. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173(4):386–392. https://doi.org/10.1164/rccm.200507-1059OC.
27. Kharitonov S.A., Barnes P.J. Biomarkers of Some Pulmonary Diseases in Exhaled Breath. *Biomarkers.* 2002;7(1):1–32. https://doi.org/10.1080/13547500110104233.
28. MacGregor G., Ellis S., Andrews J., Imrie M., Innes A., Greening A.P., Cunningham S. Breath Condensate Ammonium Is Lower in Children with Chronic Asthma. *Eur Respir J.* 2005;(26):271–276. https://doi.org/10.1183/09031936.05.00106204.
29. Carpagnano G.E., Palladino G.P., Gramiccioni C., Barbaro M.P.F., Martinelli D. Exhaled ERCC'1 and ERCC'2 Microsatellite Alterations in NSCLC Patients. *Lung Cancer.* 2010;68(2):305–307. https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2010.01.020.
30. Culpitt S.V., Russell R.E.K. The Measurement of Hydrogen Peroxide in Airway Disease. *Eur Respir Rev.* 1999;(68):246–248.
31. Conner G.E., Salathe M., Forteza R. Lactoperoxidase and Hydrogen Peroxide Metabolism in the Airway. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166(12–2):57–61. https://doi.org/10.1164/rccm.2206018.
32. Dohlman A.W., Black H.R., Royall J.A. Expired Breath Hydrogen Peroxide Is a Marker of Acute Airway Inflammation in Pediatric Patients with asthma. *Am Rev Respir Dis.* 1993;148(4–1):955–960. https://doi.org/10.1164/ajrccm/148.4_Pt_1.955.
33. Jobsis Q., Raatgeep H.C., Hermans P.W., de Jongste J.C. Hydrogen Peroxide in Exhaled Air Is Increased in Stable Asthmatic Children. *Eur Respir J.* 1997;(10):519–521. Available at: https://erj.ersjournals.com/content/10/3/519.long.
34. Hanazawa T., Kharitonov S.A., Barnes P.J. Increased Nitrotyrosine in Exhaled Breath Condensate of Patients with Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(4–1):1273–1276. https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.4.9912064.
35. Hunt J., Byrns R.E., Ignarro L.J., Gaston B. Condensed Expirate Nitrite as a Home Marker for Acute Asthma. *Lancet.* 1995;346(8984):1235–1236. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(95)92947-9.
36. Roberts L.J., Morrow J.D. The Isoprostanes: Novel Markers of Lipid Peroxidation and Potential Mediators of Oxidant Injury. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res.* 1995;(23):219–24. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7732838/.
37. Morrow J.D., Awad J.A., Boss H.J., Blair I.A., Roberts L.J. Non-Cyclooxygenase-Derived Prostanoids (F2-Isoprostanes) Are Formed *in situ* on Phospholipids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(22):10721–10725. https://doi.org/10.1073/pnas.89.22.10721.
38. Montuschi P., Corradi M., Ciabattoni G., Nightingale J., Kharitonov S.A., Barnes P.J. Increased 8-Isoprostane, A Marker of Oxidative Stress, in Exhaled Condensate of Asthma Patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999;160(1):216–220. https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.1.9809140.
39. Baraldi E., Carraro S., Alinovi R., Pesci A., Ghiro L., Bodini A. et al. Cysteinylleukotrienes and 8-Isoprostane in Exhaled Breath Condensate of Children with Asthma Exacerbation. *Thorax.* 2003;58(6):505–509. Available at: https://thorax.bmj.com/content/58/6/505.
40. Wu D., Zhou J., Bi H., Li L., Gao W., Huang M. et al. CCL11 as a Potential Diagnostic Marker for Asthma? *J Asthma.* 2014;51(8):847–854. https://doi.org/10.3109/02770903.2014.917659.
41. Zietkowski Z., Tomasiak M.M., Skiepko R., Bodzenta-Lukaszyk A. RANTES in Exhaled Breath Condensate of Stable an Dunstable Asthma Patients. *Respir Med.* 2008;102(8):1198–1202. https://doi.org/10.1016/j.rmed.2008.03.010.
42. Matsunaga K., Yanagisawa S., Ichikawa T., Ueshima K., Akamatsu K., Hirano T. et al. Airway Cytokine Expression Measured by Means of Protein Array in Exhaled Breath Condensate: Correlation with Physiologic Properties in Asthmatic Patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118(1):84–90. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.04.020.
43. Simpson J.L., Scott R.J., Boyle M.J., Gibson P.G. Differential Proteolytic Enzyme Activity in Eosinophilic and Neutrophilic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;172(5):559–565. https://doi.org/10.1164/rccm.200503-369OC.
44. Van den Steen P.E., Proost P., Wuyts A., Damme J.V., Opdenakker G. Neutrophil Gelatinase B Potentiates Interleukin-8 Tenfold by Amino Terminal Processing, Where as It Degrades CTAP-III, PF-4, and GRO-alpha and Leaves RANTES and MCP-2 Intact. *Blood.* 2000;96(8):2673–2681. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11023497/.
45. Park W.Y., Goodman R.B., Steinberg K.P., Ruzinski J.T., Radella F., Park D.R. et al. Cytokine Balance in the Lungs of Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164(10–1):1896–1903. https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.10.2104013.
46. Коненков В.И., Ракова И.А., Авдошина В.В., Смольникова М.В., Гельфгат Е.Л. Связь аллельных вариантов промоторных участков генов IL-2 (T-330G), IL-4 (C-590T) и IL-10 (C-592A) с уровнем спонтанной продукции цитокинов *in vitro* мононуклеарными клетками периферической крови здоровых жителей Сибири европеоидного происхождения. *Медицинская генетика.* 2006;5(3):46–50. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=11631877.
47. Смольникова М.В., Фрейдин М.Б., Смирнова С.В. Гены цитокинов как генетические маркеры атопической бронхиальной астмы с контролируемым и неконтролируемым течением. *Медицинская иммунология.* 2017;19(5):605–614. https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-5-605-614.
48. Koloskova E., Bezrukov L., Marusyk U., Lobanova T., Burenyuk C. Markers of Atopic Reactivity In The Puplis With Severe Bronchial Asthma. *EUREKA: Health Sciences.* 2016;(3):12–16. https://doi.org/10.21303/2504-5679.2016.00072.
49. Shahid S.K., Kharitonov S.A., Wilson N.M., Bush A., Barnes P.J. Increased Interleukin-4 and Decreased Interferon-γ in Exhaled Breath Condensate of Children with Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165(9):1290–1293. https://doi.org/10.1164/rccm.2108082.
50. Hussein Y.M., Alzahrani S.S., Alharthi A.A., Ghonaim M.M., Alhazmi A.S., Eed E.M., Shalaby S.M. Association of Serum Cytokines Levels, Interleukin 10-1082G/A and Interferon-Gamma +874T/A Polymorphisms with Atopic Asthma Children from Saudi Arabia. *Cell Immunol.* 2014;289(1–2):21–26. https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.03.006.
51. Keskin O., Keskin M., Kucukosmanoglu E., Ozkars M.Y., Gogebakan B., Kul S. et al. Exhaled RANTES and Interleukin 4 Levels after Exercise Challenge in Children with Asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2012;109(5):303–308. https://doi.org/10.1016/j.anai.2012.08.009.

52. Терещенко С.Ю., Смольникова М.В., Каспаров Э.В., Шахтшнейдер Е.В., Малинчик М.А., Коноплева О.С., Смирнова С.В. Роль генетического полиморфизма IL13 в развитии бронхиальной астмы у детей. *Медицинская иммунология.* 2020;22(5):907–917. https://doi.org/10.15789/1563-0625-ROI-1986.
53. Gour N., Wills-Karp M. IL-4 and IL-13 Signaling in Allergic Airway Disease. *Cytokine.* 2015;75(1):68–78. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.05.014.
54. Makieieva N., Malakhova V., Vasylchenko Y., Tsymbal V. Are Level of IL-13 and IL-4 Predictive for Formation of Chronic Inflammation in Children with Asthma? *Adv Respir Med.* 2020;(88):320–326. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32869265/.
55. Su H., Lei C.T., Zhang C. Interleukin-6 Signaling Pathway and Its Role in Kidney Disease: An Update. *Front Immunol.* 2017;(8):405. https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00405.
56. Bucchioni E., Kharitonov S.A., Allegra L., Barnes P.J. High Levels of Interleukin-6 in the Exhaled Breath Condensate of Patients with COPD. *Respir Med.* 2003;97(12):1299–1302. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14682411/.
57. Walz A., Burgener R., Car B., Baggiolini M., Kunkel S.L., Strieter R.M. Structure and Neutrophil-Activating Properties of a Novel Inflammatory Peptide (ENA-78) with Homology to Interleukin 8. *J Exp Med.* 1991;(174):1355–1362. https://doi.org/10.1084/jem.174.6.1355.
58. Amin K., Lúdvíksdóttir D., Janson C., Nettelbladt O., Björnsson E., Roomans G.M. et al. Inflammation and Structural Changes in the Airways of Patients with Atopic and Nonatopic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(6):2295–2301. https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.6.9912001.
59. Lindén A., Laan M., Anderson G.P. Neutrophils, Interleukin-17A and Lung Disease. *Eur Respir J.* 2005;(25):159–172. https://doi.org/10.1183/09031936.04.00032904.
60. Glück J., Rymarczyk B., Kasprzak M., Rogala B. Increased Levels of Interleukin-33 and Thymic Stromal Lymphopoietin in Exhaled Breath Condensate in Chronic Bronchial Asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 2016;169(1):51–56. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26953567/.
61. Scheideler S.E., Jaroni D., Froning G. Strain and Age Effects on Egg Composition from Hens Fed Diets Rich in n-3 Fatty Acids. *Poult Sci.* 1998;77(2):192–196. https://doi.org/10.1093/ps/77.2.192.
62. Sack U., Scheibe R., Wötzel M., Hammerschmidt S., Kuhn H., Emmrich F. et al. Multiplex Analysis of Cytokines in Exhaled Breath Condensate. *Cytometry A.* 2006;69(3):169–172. https://doi.org/10.1002/cyto.a.20231.
63. Robroeks C.M.H.H.T., van de Kant K.D.G., Jöbsis Q., Hendriks H.J.E., van Gent R., Wouters E.F.M. et al. Exhaled Nitric Oxide and Biomarkers in Exhaled Breath Condensate Indicate the Presence, Severity and Control of Childhood Asthma. *Clin Exp Allergy.* 2007;37(9):1303–1311. https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02788.x.
64. Profita M., Grutta S.L., Carpagnano E., Riccobono L., Giorgi R.D., Bonanno A. et al. Noninvasive Methods for the Detection of Upper and Lower Airway Inflammation in Atopic Children. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118(5):1068–1074. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.07.028.
65. Brunetti L., Francavilla R., Tesse R., Fiermonte P., Fiore F.P., Loré M. et al. Exhaled Breath Condensate Cytokines and pH in Pediatric Asthma and Atopic Dermatitis. *Allergy Asthma Proc.* 2008;29(5):461–467. https://doi.org/10.2500/aap.2008.29.3152.

References

1. Lukina O.F. Modern Methods of Studying Lung Function in Children. *Lechaschi Vrach.* 2003;(3):32–34. (In Russ.) Available at: https://www.lvrach.ru/2003/03/4530142.
2. Anaev E.Kh., Chuchalin A.G. Investigation of Exhaled Air Condensate in Pulmonology (Review of Foreign Literature). *Pulmonologiya = Russian Pulmonology.* 2002;(2):57–64. (In Russ.) Available at: https://journal.pulmonology.ru/pulm/article/view/2113?locale=ru_RU.
3. Saveliev B.P., Shiryaeva I.S. *Functional Parameters of the Respiratory System in Children and Adolescents. A Guide for Doctors.* Moscow: Meditsina; 2001. 232 p. (In Russ.) Available at: https://www.combook.ru/product/10027252/.
4. Furman E.G., Koryukina I.P. *Bronchial Asthma in Children: Markers of Inflammation and the State of the Function of External Respiration.* Perm; 2010. 183 p. (In Russ.).
5. Montuschi P. Analysis of Exhaled Breath Condensate in Respiratory Medicine: Methodological Aspects and Potential Clinical Applications. *Ther Adv Respir Dis.* 2007;1(1):5–23. https://doi.org/10.1177/1753465807082373.
6. Sidorenko G.I., Zborovskiy E.I., Levina D.I. Surface-Active Properties of Exhaled Air Condensate (A New Way to Study Lung Function). *Terapevticheskii arkhiv = Therapeutic Archive.* 1980;(3):65–68. (In Russ.).
7. Horváth I., Hunt J., Barnes P.J., Alving K., Antczak A., Baraldi E. et al. Exhaled Breath Condensate: Methodological Recommendations and Unresolved Questions. *Eur Respir J.* 2005;26(3):523–548. https://doi.org/10.1183/09031936.05.00029705.
8. Thomas P.S., Lowe A.J., Samarasinghe P., Lodge C.J., Huang Y., Abramson M.J. et al. Exhaled Breath Condensate in Pediatric Asthma: Promising New Advance or Pouring Cold Water on a Lot of Hot Air? A Systematic Review. *Pediatr Pulmonol.* 2013;48(5):419–442. https://doi.org/10.1002/ppul.22776.
9. Tateosian N.L., Costa M.J., Guerrieri D., Barro A., Mazzei J.A., Chuluyan H.E. Inflammatory Mediators in Exhaled Breath Condensate of Healthy Donors And Exacerbated COPD Patients. *Cytokine.* 2012;58(3):361–367. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.03.006.
10. Chen X., Bracht J.R., Goldman A.D., Dolzhenko E., Clay D.M., Swart E.C. et al. The Architecture of a Scrambled Genome Reveals Massive Levels of Genomic Rearrangement during Development. *Cell.* 2014;158(5):1187–1198. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.07.034.
11. Colombo C., Faelli N., Tirelli A.S., Fortunato F., Biffi A., Claut L. et al. Analysis of Inflammatory and Immune Response Biomarkers in Sputum and Exhaled Breath Condensate by a Multi-Parametric Biochip Array in Cystic Fibrosis. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2011;24(2):423–432. https://doi.org/10.1177/039463201102400215.
12. Czebe K., Barta I., Antus B., Valyon M., Horvath I., Kullmann T. Influence of Condensing Equipment and Temperature on Exhaled Breath Condensate pH, Total Protein and Leukotriene Concentrations. *Respir Med.* 2008;102(5):720–725. https://doi.org/10.1016/j.rmed.2007.12.013.
13. Klimanov I.A., Soodaeva S.K., Lisitsa A.V., Kudryavtsev V.B., Chuchalin A.G. Standardization of the Preanalytical Stage in the Study of Exhaled Air Condensate. *Pulmonologiya = Russian Pulmonology.* 2006;(2):53–55. (In Russ.) Available at: https://journal.pulmonology.ru/pulm/article/view/1437/1535.
14. Carter S.R., Davis C.S., Kovacs E.J. Exhaled Breath Condensate Collection in the Mechanically Ventilated Patient. *Respir Med.* 2012;106(5):601–613. https://doi.org/10.1016/j.rmed.2012.02.003.
15. Montuschi P., Ragazzoni E., Valente S., Corbo G., Mondino C., Ciappi G., Ciabattoni G. Validation of 8-Isoprostane and Prostaglandin E_2 Measurements in Exhaled Breath Condensate. *Inflamm Res.* 2003;(52):502–507. https://doi.org/10.1007/s00011-003-1212-6.
16. Hunt J. Exhaled Breath Condensate: An Evolving Tool for Non-Invasive Evaluation of Lung Disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2002;(110):28–34. https://doi.org/10.1067/mai.2002.124966.
17. Romero P.V., Rodrigeuz B., Martinez S., Canizares R., Sepulveda D., Manresa F. Analysis of Oxidative Stress in Exhaled Breath Condensate from Patients with Severe Pulmonary Infections. *Arch Bronconeumol.* 2006;42(3):113–119. (In Spanish). https://doi.org/10.1016/S1579-2129(06)60128-6.
18. Zakrzewski J.T., Barnes N.C., Costello J.F., Piper P.J. Lipid Mediators in Cystic Fibrosis and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am Rev Respir Dis.* 1987;136(3):779–782. https://doi.org/10.1164/ajrccm/136.3.779.
19. Rosias P.P.R., Dompeling E., Hendriks H.J.E., Heijnens J.W.C.M., Donckerwolcke R.A.M.G., Jobsis Q. Exhaled Breath Condensate in Children: Pearls and Pitfalls. *Pediatr Allergy Immunol.* 2004;15(1):4–19. https://doi.org/10.1046/j.0905-6157.2003.00091.x.
20. American Thoracic Society. Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide in Adults and Children – 1999. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005;171(8):912–930. https://doi.org/10.1164/rccm.200406-710ST.
21. Gessner C., Scheibe R., Wötzel M., Hammerschmidt S., Kuhn H., Engelmann L. et al. Exhaled Breath Condensate Cytokine Patterns in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Respir Med.* 2005;99(10):1229–1240. https://doi.org/10.1016/j.rmed.2005.02.041.
22. Effros R.M., Peterson B., Casaburi R., Su J., Dunning M., Torday J. et al. Epithelial lining Fluid Solute Concentrations in Chronic Obstructive Lung Disease Patients Andnormal Subjects. *J Appl Physiol (1985).* 2005;99(4):1286–1292. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00362.2005.
23. Montuschi P. (ed.). *New Perspectives in Monitoring Lung Inflammation. Analysis of Exhaled Breath Condensate.* Boca Raton: CRC Press; 2004. 232 p. https://doi.org/10.3109/9780203022153.
24. Janicka M., Kot-Wasik A., Kot J., Namiesnik J. Isoprostanes-Biomarkers of Lipid Peroxidation: Their Utility in Evaluating Oxidative Stress and Analysis. *Int J Mol Sci.* 2010;11(11):4631–4659. https://doi.org/10.3390/ijms11114631.
25. Glowacka E., Jedynak-Wasowicz U., Sanak M., Lis G. Exhaled Eicosanoid Profiles in Children with Atopic Asthma and Healthy Controls. *Pediatr Pulmonol.* 2013;48(4):324–335. https://doi.org/10.1002/ppul.22615.

26. Effros R.M., Casaburi R., Su J., Dunning M., Torday J., Biller J., Shaker R. The Effects of Volatile Salivary Acids and Bases on Exhaled Breath Condensate pH. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173(4):386–392. https://doi.org/10.1164/rccm.200507-1059OC.
27. Kharitonov S.A., Barnes P.J. Biomarkers of Some Pulmonary Diseases in Exhaled Breath. *Biomarkers*. 2002;7(1):1–32. https://doi.org/10.1080/13547500110104233.
28. MacGregor G., Ellis S., Andrews J., Imrie M., Innes A., Greening A.P., Cunningham S. Breath Condensate Ammonium Is Lower in Children with Chronic Asthma. *Eur Respir J*. 2005;(26):271–276. https://doi.org/10.1183/09031936.05.00106204.
29. Carpagnano G.E., Palladino G.P., Gramiccioni C., Barbaro M.P.F., Martinelli D. Exhaled ERCC'1 and ERCC'2 Microsatellite Alterations in NSCLC Patients. *Lung Cancer*. 2010;68(2):305–307. https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2010.01.020.
30. Culpitt S.V., Russell R.E.K. The Measurement of Hydrogen Peroxide in Airway Disease. *Eur Respir Rev*. 1999;(68):246–248.
31. Conner G.E., Salathe M., Forteza R. Lactoperoxidase and Hydrogen Peroxide Metabolism in the Airway. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166(12–2):57–61. https://doi.org/10.1164/rccm.2206018.
32. Dohlman A.W., Black H.R., Royall J.A. Expired Breath Hydrogen Peroxide Is a Marker of Acute Airway Inflammation in Pediatric Patients with asthma. *Am Rev Respir Dis*. 1993;148(4–1):955–960. https://doi.org/10.1164/ajrccm/148.4_Pt_1.955.
33. Jobsis Q., Raatgeep H.C., Hermans P.W., de Jongste J.C. Hydrogen Peroxide in Exhaled Air Is Increased in Stable Asthmatic Children. *Eur Respir J*. 1997;(10):519–521. Available at: https://erj.ersjournals.com/content/10/3/519.long.
34. Hanazawa T., Kharitonov S.A., Barnes P.J. Increased Nitrotyrosine in Exhaled Breath Condensate of Patients with Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162(4–1):1273–1276. https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.4.9912064.
35. Hunt J., Byrns R.E., Ignarro L.J., Gaston B. Condensed Expirate Nitrite as a Home Marker for Acute Asthma. *Lancet*. 1995;346(8984):1235–1236. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(95)92947-9.
36. Roberts L.J., Morrow J.D. The Isoprostanes: Novel Markers of Lipid Peroxidation and Potential Mediators of Oxidant Injury. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res*. 1995;(23):219–24. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7732838/.
37. Morrow J.D., Awad J.A., Boss H.J., Blair I.A., Roberts L.J. Non-Cyclooxygenase-Derived Prostanoids (F2-Isoprostanes) Are Formed *in situ* on Phospholipids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(22):10721–10725. https://doi.org/10.1073/pnas.89.22.10721.
38. Montuschi P., Corradi M., Ciabattoni G., Nightingale J., Kharitonov S.A., Barnes P.J. Increased 8-Isoprostane, A Marker of Oxidative Stress, in Exhaled Condensate of Asthma Patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;160(1):216–220. https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.1.9809140.
39. Baraldi E., Carraro S., Alinovi R., Pesci A., Ghiro L., Bodini A. et al. Cysteinylleukotrienes and 8-Isoprostane in Exhaled Breath Condensate of Children with Asthma Exacerbation. *Thorax*. 2003;58(6):505–509. Available at: https://thorax.bmj.com/content/58/6/505.
40. Wu D., Zhou J., Bi H., Li L., Gao W., Huang M. et al. CCL11 as a Potential Diagnostic Marker for Asthma? *J Asthma*. 2014;51(8):847–854. https://doi.org/10.3109/02770903.2014.917659.
41. Zietkowski Z., Tomasiak M.M., Skiepko R., Bodzenta-Lukaszyk A. RANTES in Exhaled Breath Condensate of Stable an Dunstable Asthma Patients. *Respir Med*. 2008;102(8):1198–1202. https://doi.org/10.1016/j.rmed.2008.03.010.
42. Matsunaga K., Yanagisawa S., Ichikawa T., Ueshima K., Akamatsu K., Hirano T. et al. Airway Cytokine Expression Measured by Means of Protein Array in Exhaled Breath Condensate: Correlation with Physiologic Properties in Asthmatic Patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;118(1):84–90. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.04.020.
43. Simpson J.L., Scott R.J., Boyle M.J., Gibson P.G. Differential Proteolytic Enzyme Activity in Eosinophilic and Neutrophilic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(5):559–565. https://doi.org/10.1164/rccm.200503-369OC.
44. Van den Steen P.E., Proost P., Wuyts A., Damme J.V., Opdenakker G. Neutrophil Gelatinase B Potentiates Interleukin-8 Tenfold by Amino Terminal Processing, Where as It Degrades CTAP-III, PF-4, and GRO-alpha and Leaves RANTES and MCP-2 Intact. *Blood*. 2000;96(8):2673–2681. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11023497/.
45. Park W.Y., Goodman R.B., Steinberg K.P., Ruzinski J.T., Radella F., Park D.R. et al. Cytokine Balance in the Lungs of Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(10–1):1896–1903. https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.10.2104013.
46. Konenkov V.I., Rakova I.A., Avdoshina V.V., Smolnikova M.V., Gelfgat E.L. Relationship of Allelic Variants of Promoter Regions of Genes IL-2 (T-330G), IL-4 (C-590T), and IL-10 (C-592A) with the Level of Spontaneous Production of Cytokines *in vitro* by Mononuclear Cells of Peripheral Blood of Healthy Inhabitants of Siberia of Caucasian Origin. *Meditsinskaya genetika = Medical Genetics*. 2006;5(3):46–50. (In Russ.) Available at: https://elibrary.ru/item.asp?id=11631877.
47. Smolnikova M.V., Freydin M.B., Smirnova S.V. Cytokine Genes as Genetic Markers of Controlled and Uncontrolled Atopic Bronchial Asthma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*. 2017;19(5):605–614. (In Russ.) https://doi.org/10.15789/1563-0625-2017-5-605-614.
48. Koloskova E., Bezrukov L., Marusyk U., Lobanova T., Burenyuk C. Markers of Atopic Reactivity In The Puplis With Severe Bronchial Asthma. *EUREKA: Health Sciences*. 2016;(3):12–16. https://doi.org/10.21303/2504-5679.2016.00072.
49. Shahid S.K., Kharitonov S.A., Wilson N.M., Bush A., Barnes P.J. Increased Interleukin-4 and Decreased Interferon-γ in Exhaled Breath Condensate of Children with Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(9):1290–1293. https://doi.org/10.1164/rccm.2108082.
50. Hussein Y.M., Alzahrani S.S., Alharthi A.A., Ghonaim M.M., Alhazmi A.S., Eed E.M., Shalaby S.M. Association of Serum Cytokines Levels, Interleukin 10-1082G/A and Interferon-Gamma +874T/A Polymorphisms with Atopic Asthma Children from Saudi Arabia. *Cell Immunol*. 2014;289(1–2):21–26. https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2014.03.006.
51. Keskin O., Keskin M., Kucukosmanoglu E., Ozkars M.Y., Gogebakan B., Kul S. et al. Exhaled RANTES and Interleukin 4 Levels after Exercise Challenge in Children with Asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012;109(5):303–308. https://doi.org/10.1016/j.anai.2012.08.009.
52. Tereschenko S.Yu., Smolnikova M.V., Kasparov E.V., Shakhtshneider E.V., Malinchik M.A., Konopleva O.S., Smirnova S.V. Role of IL13 Gene Polymorphism in Development Bronchial Asthma in Children. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*. 2020;22(5):907–914. (In Russ.) https://doi.org/10.15789/1563-0625-ROI-1986.
53. Gour N., Wills-Karp M. IL-4 and IL-13 Signaling in Allergic Airway Disease. *Cytokine*. 2015;75(1):68–78. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.05.014.
54. Makieieva N., Malakhova V., Vasylchenko Y., Tsymbal V. Are Level of IL-13 and IL-4 Predictive for Formation of Chronic Inflammation in Children with Asthma? *Adv Respir Med*. 2020;(88):320–326. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32869265/.
55. Su H., Lei C.T., Zhang C. Interleukin-6 Signaling Pathway and Its Role in Kidney Disease: An Update. *Front Immunol*. 2017;(8):405. https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00405.
56. Bucchioni E., Kharitonov S.A., Allegra L., Barnes P.J. High Levels of Interleukin-6 in the Exhaled Breath Condensate of Patients with COPD. *Respir Med*. 2003;97(12):1299–1302. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14682411/.
57. Walz A., Burgener R., Car B., Baggiolini M., Kunkel S.L., Strieter R.M. Structure and Neutrophil-Activating Properties of a Novel Inflammatory Peptide (ENA-78) with Homology to Interleukin 8. *J Exp Med*. 1991;(174):1355–1362. https://doi.org/10.1084/jem.174.6.1355.
58. Amin K., Lúdvíksdóttir D., Janson C., Nettelbladt O., Björnsson E., Roomans G.M. et al. Inflammation and Structural Changes in the Airways of Patients with Atopic and Nonatopic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162(6):2295–2301. https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.6.9912001.
59. Lindén A., Laan M., Anderson G.P. Neutrophils, Interleukin-17A and Lung Disease. *Eur Respir J*. 2005;(25):159–172. https://doi.org/10.1183/09031936.04.00032904.
60. Glück J., Rymarczyk B., Kasprzak M., Rogala B. Increased Levels of Interleukin-33 and Thymic Stromal Lymphopoietin in Exhaled Breath Condensate in Chronic Bronchial Asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;169(1):51–56. Available at: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26953567/.
61. Scheideler S.E., Jaroni D., Froning G. Strain and Age E ffects on Egg Composition from Hens Fed Diets Rich in n-3 Fatty Acids. *Poult Sci*. 1998;77(2):192–196. https://doi.org/10.1093/ps/77.2.192.
62. Sack U., Scheibe R., Wötzel M., Hammerschmidt S., Kuhn H., Emmrich F. et al. Multiplex Analysis of Cytokines in Exhaled Breath Condensate. *Cytometry A*. 2006;69(3):169–172. https://doi.org/10.1002/cyto.a.20231.
63. Robroeks C.M.H.H.T., van de Kant K.D.G., Jöbsis Q., Hendriks H.J.E., van Gent R., Wouters E.F.M. et al. Exhaled Nitric Oxide and Biomarkers in Exhaled Breath Condensate Indicate the Presence, Severity and Control of Childhood Asthma. *Clin Exp Allergy*. 2007;37(9):1303–1311. https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2007.02788.x.
64. Profita M., Grutta S.L., Carpagnano E., Riccobono L., Giorgi R.D., Bonanno A. et al. Noninvasive Methods for the Detection of Upper and Lower Airway Inflammation in Atopic Children. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;118(5):1068–1074. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.07.028.
65. Brunetti L., Francavilla R., Tesse R., Fiermonte P., Fiore F.P., Loré M. et al. Exhaled Breath Condensate Cytokines and pH in Pediatric Asthma and Atopic Dermatitis. *Allergy Asthma Proc*. 2008;29(5):461–467. https://doi.org/10.2500/aap.2008.29.3152.

Информация об авторах:

Терещенко Сергей Юрьевич, д.м.н., профессор, заведующий клиническим отделением соматического и психического здоровья детей, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г; legise@mail.ru

Малинчик Марина Александровна, младший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г; seapearl1995@gmail.com

Смольникова Марина Викторовна, к.б.н., ведущий научный сотрудник, руководитель группы молекулярно-генетических исследований, Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук; 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г; smarinv@yandex.ru

Information about the authors:

Sergey Yu. Tereshchenko, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Clinical Department of Somatic and Mental Health of Children, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 3G, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; legise@mail.ru

Marina A. Malinchik, Junior Researcher Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 3G, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; seapearl1995@gmail.com

Marina V. Smolnikova, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Head of the Molecular Genetic Research Group, Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 3G, Partizan Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russia; smarinv@yandex.ru