

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Козлов А.В., Гусякова О.А., Ерещенко А.А., Халиулин А.В.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ СОВРЕМЕННОГО БИОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МОКРОТЫ У ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара, Россия

В обзоре представлены патобиохимические и молекулярные механизмы образования мокроты у пациентов с муковисцидозом, связанные с патофизиологическими особенностями заболевания. Приведены статистические данные по распространенности данной патологии в мире и в Российской Федерации. Рассмотрены механизмы образования мокроты и нарушения работы мукоцилиарного аппарата, приводящие к накоплению вязкого бронхо-легочного секрета при муковисцидозе. Представлены принципы взаимосвязи реологических свойств мокроты и формирования воспалительного процесса в легких с присоединением сопутствующей специфической микрофлоры в бронхо-легочной системе у пациентов с муковисцидозом. Описаны возможности биохимического исследования мокроты при данной патологии: определение активности ферментов (миелопероксидазы), содержания ингибиторов протеиназ (α 2-макроглобулина и α 1-антитрипсина) и провоспалительных цитокинов (IL-8 и TNF α), концентрации железа и железосвязывающих белков (лактоферрина и ферритина), что делает биохимическое исследование мокроты доступным, неинвазивным, быстрым и малозатратным методом диагностики, который может широко применяться в качестве вспомогательного лабораторного метода исследования и дает возможность использовать эти метаболиты в качестве диагностических маркеров для оценки тяжести воспалительного и инфекционного процесса нижних дыхательных путей и прогноза развития респираторных осложнений у пациентов с муковисцидозом.

Ключевые слова: мокрота; муковисцидоз; биохимические исследования; воспаление; обзор.

Для цитирования: Козлов А.В., Гусякова О.А., Ерещенко А.А., Халиулин А.В. Диагностические возможности современного биохимического исследования мокроты у пациентов с муковисцидозом (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (1): 24-28. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-24-28>

Kozlov A.V., Gusyakova O.A., Erechenko A.A., Khaliulin A.V.

DIAGNOSTIC POSSIBILITIES OF MODERN BIOCHEMICAL STUDY OF SPUTUM FROM PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS (LITERATURE REVIEW)

Samara State Medical University, 43099, Samara, Russia

The review presents the pathobiochemical and molecular mechanisms of sputum formation in patients with cystic fibrosis associated with the pathophysiological features of the disease. Statistical data on the prevalence of this pathology in the world and in the Russian Federation are presented. The mechanisms of sputum formation and disorders of the mucociliary apparatus, leading to the accumulation of viscous bronchopulmonary secret in cystic fibrosis, are considered. The principles of the relationship between the rheological properties of sputum and the formation of inflammation in the lungs with the addition of a concomitant specific microflora in the bronchopulmonary system in patients with cystic fibrosis are presented. Describes the opportunities for biochemical studies of sputum of patients with this pathology: determining the activity of enzymes (myeloperoxidase), the content of proteinase inhibitors (α 2-macroglobulin and α 1-antitrypsin) and proinflammatory cytokines (IL-8 and TNF α), concentrations of iron and ferriferous proteins (lactoferrin and ferritin), which makes biochemical studies of sputum available, non-invasive, quick and cost-effective method of diagnosis, which can be widely used as an auxiliary laboratory method and makes it possible to use these metabolites as diagnostic markers to assess the severity of inflammation and infection of the lower respiratory tract and predict the development of respiratory complications in patients with cystic fibrosis.

Key words: research; inflammation; review sputum; cystic fibrosis; biochemical.

For citation: Kozlov A.V., Gusyakova O.A., Erechenko A.A., Khaliulin A.V. Diagnostic possibilities of modern biochemical study of sputum from patients with cystic fibrosis (literature review). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (1): 24-28. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-1-24-28>

For correspondence: Kozlov A.V., assistant of the chair of fundamental and clinical biochemistry with laboratory diagnostics; e-mail: kozlov.biochemistry@yandex.ru

Information about authors:

Kozlov A.V. <https://orcid.org/0000-0001-9384-6854>

Gusyakova O.A., <https://orcid.org/0000-0002-5619-4583>

Ereshchenko, A.A., <https://orcid.org/0000-0002-4221-4440>

Khaliulin A.V., <http://orcid.org/0000-0003-4689-8904>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 15.11.2018
Accepted 15.12.2018

Мокрота – патологическое отделяемое, которое образуется в нижних дыхательных путях из трахеобронхиального секрета в результате воспаления или повреждения, характеризующееся различным объемом, цветом, консистенцией, запахом, реологическими свойствами. В настоящее время мокрота активно исследуется при заболеваниях нижних дыхательных путей различной этиологии с помощью преимущественно микроскопического и бактериологического методов исследования [1], однако эти методы явно недостаточны для комплексной оценки воспалительного процесса в бронхолегочной системе. По результатам исследований периферической крови также сложно выявить особенности заболеваний бронхо-легочной системы, которые сопровождаются появлением в сыворотке крови метаболитов, различных по природе и количеству, однако эти параметры зачастую имеют ориентировочный характер и не дают целостной картины воспалительного процесса в респираторном тракте. В связи с этим все чаще в научной литературе появляются работы, посвященные использованию дополнительных методов исследования мокроты, в частности оценке биохимических параметров.

Особое значение исследование мокроты имеет для пациентов с муковисцидозом, у которых ведущими нарушениями является поражение двух систем: бронхолегочной и пищеварительной [2]. В настоящее время муковисцидоз (кистозный фиброз) представляет собой одно из самых актуальных и наиболее часто встречающихся наследственных заболеваний. По данным Всемирной Организации Здравоохранения ежегодно в мире рождается 40-50 тыс. детей с муковисцидозом, при этом оценить количество гетерозиготных носителей можно только примерно – десятки миллионов. Распространенность заболевания широко варьируется и зависит от географических зон и этнической принадлежности: муковисцидоз наиболее часто встречается в странах Западной Европы и Северной Америки, составляя 1:2500-1:3000 новорожденных [3,4], намного реже в странах юго-восточной Азии – примерно 1:400 000 [5,6]. В России распространенность муковисцидоза ниже, чем в европейских странах и ориентировочно составляет 1:10000 новорожденных [7]. Также об актуальности и приоритетности проблемы муковисцидоза в Российской Федерации говорит то, что данное заболевание включено в Национальную программу по неонатальному скринингу в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития РФ от 22.03.2006 г. №185 «О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания», и активно диагностируется во всех субъектах страны [8].

Муковисцидоз является наследственным аутосомно-рецессивным заболеванием, в этиологии которого лежит мутация гена Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR), кодирующего трансмембранный регулятор муковисцидоза. Следствием этого является поражение экзокринных желез дыхательных путей, органов пищеварения (в первую очередь поджелудочной железы) и урогенитального тракта, что приводит к развитию тяжелых осложнений, и, несомненно, ухудшению качества жизни [9,10]. Именно поэтому возникает необходимость своевременной и качественной диагностики заболевания с последующим проведением адекватной терапии, реабилитации и социальной адаптации, что также актуально в экономическом плане, так как неточность диагностики и нерациональная лечебная тактика приведут к лишним экономическим затратам, а по от-

ношению к пациенту – осложнениям, инвалидизации, летальному исходу. Основной причиной смертности больных муковисцидозом является дыхательная недостаточность [11], развивающаяся на фоне длительного воспаления, вызванного специфической флорой и особенностями мокроты.

Мокрота у данных пациентов гнойная, густой консистенции, различная по объему и трудно отделяемая, чему способствует ряд факторов. Молекулярно-генетические особенности заболевания характеризуются, в первую очередь, нарушением работы специфического белка-переносчика электролитов Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR). В норме этот белок является цАМФ-зависимым хлорным каналом, опосредованно регулирующим работу других ионных каналов, в том числе и натриевого [12]. Однако у пациентов с муковисцидозом вследствие мутации гена CFTR работа данного белка нарушена, что приводит к накоплению избыточного количества ионов хлора в клетке. Далее за ионами хлора в клетку устремляются ионы натрия, являющиеся осмотически активными электролитами, что обуславливает усиленное всасывание воды с поверхности клеток и межклеточного пространства, и, как следствие, происходит сгущение секрета [13]. Вязкий секрет способствует застою мокроты и ее бактериальной контаминации, развивается воспаление, в ответ на которое в дыхательные пути пациента поступает большое количество нейтрофилов. При дегенерации нейтрофилов высвобождается значительное количество нуклеиновых кислот, что также обуславливает повышенную вязкость мокроты у пациентов с муковисцидозом [14]. При хроническом воспалении у пациентов с муковисцидозом ДНК нейтрофилов может накапливаться в достаточном большом количестве – от 3 до 14 мг нуклеиновых кислот в 1 мл мокроты [15]. Образование вязкой мокроты и нарушение работы мукоцилиарного клиренса создает благоприятные условия для колонизации микрофлорой, что в короткий период может привести к развитию инфекции, которая еще больше усугубляет течение патологического процесса в бронхо-легочной системе у пациентов с муковисцидозом [16]. Формируется один из «порочных кругов»: в ответ на присутствие микроорганизмов в мокроте увеличивается количество нейтрофилов и других антибактериальных компонентов, но их конечная активность снижается из-за повышенной вязкости мокроты. Дополнительно стоит отметить, что микрофлора дыхательных путей пациентов с муковисцидозом отличается специфичностью и разнообразием. В первую очередь стоит обратить внимание на возбудителей, представляющих угрозу для жизни этой группы пациентов – *Pseudomonas aeruginosa* и *Burkholderia cenocepacia*. Эти микроорганизмы относятся к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий (НФГОБ), длительно персистируют у пациентов с муковисцидозом и продуцируют метаболиты, влияющие на развитие патологического процесса в дыхательных путях [17].

Для оценки степени патологических изменений, обусловленных воздействием микроорганизмов на бронхолегочную систему у пациентов с муковисцидозом проводился ряд исследований активности ферментов в мокроте. В частности, в одной из работ было показано, что активность миелопероксидазы в мокроте у пациентов с МВ значительно выше, чем в группе сравнения здоровых лиц, при этом установлена прямая корреляционная зависимость между концентрацией данного фермента

и тяжестью воспаления. Также отмечено достоверное повышение уровня миелопероксидазы при наличии *Pseudomonas aeruginosa*, что может служить маркером синегнойной инфекции и дополнительным критерием оценки тяжести воспаления у пациентов с муковисцидозом [18]. Несомненно, данный специфический фермент нейтрофилов имеет одно из ключевых значений в течение воспалительного процесса, т.к. он обладает не только выраженной бактерицидной активностью, но и участвует в развитии оксидативного стресса и свободно-радикального повреждения легочной ткани, стимулируя образование активных форм кислорода и галогенов [19]. Помимо миелопероксидазы нейтрофилы секретируют ряд различных протеиназ – нейтрафильную эластазу, коллагеназу, матриксные металлопротеиназы, нейтрофильные катепсины, протеиназу-3, избыточный синтез которых разрушает эластин, что приводит к деструкции межальвеолярных перегородок с последующим формированием фиброза. Кроме этого повышенная активность эластазы и коллагеназы приводит к гиперсекреции слизи и нарушению работы протеиназных ингибиторов – α 1-протеазного ингибитора и α 2-макроглобулина [20]. В дополнение к вышесказанному стоит отметить, что помимо эндогенных протеиназ нейтрофилов важную роль в развитии воспаления у пациентов с муковисцидозом играют протеолитические ферменты, вырабатываемые специфическими бактериальными возбудителями. По данным отечественных авторов до 83% штаммов синегнойной палочки, выделенных из мокроты у пациентов с муковисцидозом обладали выраженной протеолитической активностью, разжижая желатиновый столбик всего за 24 ч, остальные 17% расщепляли желатин в течение 7 суток [21, 22].

В норме активность протеолитических ферментов плазмы и слизистых секретов регулируется 2 основными эндогенными антипротеиназами – α 1-протеазный ингибитор (α 1-антитрипсин) и α 2-макроглобулин. α 1-протеазный ингибитор по своей структуре является гликопротеином, основной функцией которого является ингибирование эластазы. Ввиду своего небольшого размера – молекулярная масса 50 кДа – молекулы этого белка свободно диффундируют из плазмы в ткани, в частности в легкие, что может использоваться в качестве маркера воспаления и повреждения легких при исследовании мокроты [23]. α 2-макроглобулин в свою очередь является также гликопротеином, но имеет значительно большие размеры (молекулярная масса белка 725 кДа) и является более универсальным ингибитором – подавляет активность протеиназ основных классов: сериновых, тиоловых, кислых, металлосодежащих, регулируя синтез гормонов и цитокинов, гемостаз, воспалительный ответ [24]. Одни из основных функций α 2-макроглобулина при воспалительных заболеваниях нижних дыхательных путей – образование белково-лигандных комплексов, лигандами которых являются медиаторы воспаления и ингибирование нейтрофильной эластазы. Механизм ингибирования состоит в захвате ферментативной молекулы α 2-макроглобулином, при этом энзим теряет способность гидролизировать крупные белки, однако сохраняет активность по отношению к низкомолекулярным субстратам. При этом образование белково-лигандных комплексов α 2-макроглобулина с медиаторами воспаления, цитокинами, ферментами осуществляется благодаря наличию у α 2-макроглобулина трех сайтов связывания регуляторных лигандов: первый связывает ионы цинка; второй

присоединяет цитокины, гормоны, и бактерии; третий захватывает протеолитические ферменты [25]. Показатель уровня α 2-макроглобулина в мокроте может быть использован в качестве критерия активации экссудативного воспаления, индуцированного бактериальной инфекцией, а также показателем хронического воспаления в дыхательных путях. Таким образом, помимо оценки активности протеолитических ферментов в диагностических целях в мокроте у пациентов с муковисцидозом и другими заболеваниями целесообразно исследовать и ингибиторы протеиназ, которые также будут являться маркерами тяжести воспаления в легочной ткани.

Активность протеолитических ферментов является прямым критерием при оценке воспаления, обусловленным разрушением нейтрофилов при бактериальной инфекции. Однако следует учитывать, что воспаление – это многофакторный процесс, и в нем принимает активное участие ряд маркеров и медиаторов обострения воспаления, в частности провоспалительные цитокины, в основном представленные IL-8 и TNF α [25]. Для пациентов с муковисцидозом триггером для усиленного синтеза данных медиаторов воспаления является персистирующая инфекция, вызванная чаще всего *Pseudomonas aeruginosa* и возбудителями из *Burkholderia cepacia complex*.

Источником цитокинов при воспалении в легочной ткани являются эпителиальные клетки респираторного тракта, лимфоциты и макрофаги. IL-8 является цитокином белковой природы и служит важным звеном в патогенезе МВ, поскольку это один из основных хемоаттрактантов, стимулирующих движение нейтрофилов из периферической крови в бронхи и легкие и способствующие их адгезии к клеткам; кроме этого IL-8 активирует синтез протеолитических ферментов и оксидантов, формируя еще один «порочный круг» [27]. Бактериальные факторы патогенности, такие как липополисахариды и мукоидные экзополисахариды грамотрицательных бактерий стимулируют макрофаги на выработку другого важного провоспалительного медиатора – TNF α . Данный цитокин активирует образование перекиси водорода и других свободных радикалов нейтрофилами, а также является индуктором синтеза интерлейкинов. Таким образом, по мнению ряда авторов, формируется дополнительный «порочный круг» воспалительного процесса при МВ. Эти порочные круги через увеличение синтеза провоспалительных цитокинов IL-8 и TNF α стимулируют проникновение нейтрофилов в очаги воспаления, продуцирующих большое количество эластазы и других протеолитических ферментов. Эти ферменты, а также перекиси и оксиданты способствуют повреждению клеток легочной ткани, что, в свою очередь приводит к высвобождению и активации цитокинов и притоку новых нейтрофилов [27,28].

Также в последнее время все больше внимания уделяется исследованиям обмена железа в мокроте и легочной ткани у пациентов с муковисцидозом. Так, в работах зарубежных и отечественных авторов отмечается значимость определения повышения содержания железа и железосвязывающих белков в мокроте у пациентов с муковисцидозом и возможность использования данных метаболитов в качестве специфических маркеров инфекционного воспаления [29]. При этом в качестве основной причины повышения этих показателей рассматривается контаминация респираторного тракта НФГОБ, в частности особенности метаболизма *Pseudomonas aeruginosa* и

Burkholderia cepacia. Данным микроорганизмам железо жизненно необходимо, поскольку оно входит в состав дыхательной цитохромоксидазы [30], и обеспечивает работу рибонуклеотидредуктазы, катализирующей полимеризацию мононуклеотидов при синтезе нуклеиновых кислот. Помимо этого *Burkholderia cepacia* способна синтезировать с помощью железа специфические факторы защиты – ферригемы, которые предохраняют бактериальную клетку от воздействия активных форм кислорода и перекиси водорода, вырабатываемой нейтрофилами [31]. Однако количество железа в мокроте незначительно, а его источники недоступны для бактерий, т.к. находятся внутри клетки и связаны с белковым компонентом [32]. Поэтому для высвобождения железа из депо, например ферритина, некоторые микроорганизмы продуцируют протеолитические ферменты [33] или используют специфические факторы патогенности – сидерофоры [34]. При этом есть данные о возможности многих бактерий использовать не только собственные (гомологичные) сидерофоры, но и сидерофоры, синтезируемые микроорганизмами других видов (гетерологичные), что свидетельствует об эволюционно сложившимся симбиозе [35]. Так же одним из видов микробного межвидового взаимодействия является конкуренция за железо, о чем свидетельствуют работы, посвященные исследованию метаболизма синегнойной палочки и микроорганизмов из *Burkholderia cepacia complex* в дыхательных путях пациентов с муковисцидозом [36]. Результатом активного метаболизма микрофлоры является повышение уровня железа и железосвязывающих белков, благодаря которому появляется возможность оценить тяжесть воспалительного процесса. Также в некоторых проведенных исследованиях отмечается прямая корреляция уровня ферритина и лактоферрина с течением воспаления и массивности контаминации бактериальной флоры [37,38].

Таким образом, биохимическое исследование мокроты, являясь доступным, неинвазивным, быстрым и малозатратным методом диагностики, может широко применяться в качестве вспомогательного метода оценки тяжести воспалительного и инфекционного процесса нижних дыхательных путей и прогноза развития респираторных осложнений у пациентов с муковисцидозом.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3-6, 14-16, 24, 27-29, 32, 33, 36-38 см. REFERENCES)

1. Сухов В.М., Сухова Е.В. *Основы диагностики и принципы лечения заболеваний органов дыхания: Учебное пособие*. Самара: Издательство «Самарский военно-медицинский институт»; 2006.
2. Орлов А.В., Симонова О.И., Рославцева Е.А., Шадрин Д.И. *Муковисцидоз (клиническая картина, диагностика, лечение, реабилитация, диспансеризация): Учебное пособие для врачей*. СПб.: Издательство «СЗГМУ им. И.И. Мечникова»; 2014.
3. Баранов А.А., Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Намазова-Баранова Л.С., Шерман В.Д., Симонова О.И. и др. Проблемы диагностики муковисцидоза и пути их решения в России. *Педиатрическая фармакология*. 2014; 11(6): 16-23.
4. Кондратьева Е.И., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. *Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия»*. М.: Издательство «Компания БОРГЕС»; 2016.
5. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. *Муковисцидоз. Современные*

достижения и актуальные проблемы: Методические рекомендации. Изд. 4-е. Москва: Медико-генетический научный центр РАМН; 2011.

6. Горинова Ю.В., Симонова О.И., Томилова А.Ю., Рославцева Е.А. Алгоритм посиндромной комплексной терапии при муковисцидозе у детей: современный подход. *Вопросы современной педиатрии*. 2013; 12(5): 30–8.
7. Саперов В. Н. *Практическая пульмонология: Учебное пособие*. Чебоксары: ЧГУ; 2006.
8. Иващенко Т.Э., Баранов В.С., ред. *Биохимические и молекулярно-генетические основы патогенеза муковисцидоза*. С-Пб.: Интермедика; 2002.
9. Вахарловский В.Г., ред. *Муковисцидоз: генетика, клиника, патогенез, диагностика, лечение, профилактика: Методическое пособие*. С-Пб.: издательство СПбГПМА; 2012.
10. Кондратенко О.В., Лямин А.В., Жестков А.В. Структура и антибиотикорезистентность микрофлоры, выделенной из нижних дыхательных путей у пациентов с муковисцидозом в г. Самаре. *Практическая медицина*. 2012; 1(56): 85-8.
11. Суркова Е.А., Булгакова Т.В., Сологуб Т.С., Сесь Т.П., Алешина Г.М., Желенина Л.А. и др. Миелопероксидаза и лактоферрин у больных муковисцидозом. *Медицинская иммунология*. 2004; 6(1-2): 67-74.
12. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Макарова Г.А., Ушакова Е.В. Активность альфа-2-макроглобулина у больных бронхиальной астмой с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2017; 65: 31-7.
13. Лямин А.В. Особенности биологических свойств и факторов патогенности штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из разных источников. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2010; 3-4: 220-2.
14. Кондратенко О.В. Особенности биологических свойств и факторов патогенности неферментирующих грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов с муковисцидозом. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2012; 1-2: 251-3.
15. Черногорюк Г.Э., Михайлова А.А., Федосенко С.В., Акбашева О.Е., Рослякова Е.П., Антипов С.И. и др. Активация антипротеиназа в бронхиальном регионе - фактор толерантности формирования хронической обструктивной болезни легких у здоровых злостных курильщиков. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2010; 30(3): 124-9.
16. Зорин Н.А., Зорина В.Н., Зорина Р.М. Роль белков семейства макроглобулинов в регуляции воспалительных реакций. *Биомедицинская химия*. 2006; 52(3): 229–38.
17. Булгакова Т.В., Сесь Т.П., Суркова Е.А., Доценко Е.К., Желенина Л.А., Гембицкая Т.Е. Особенности воспалительного процесса у больных муковисцидозом. *Медицинская иммунология*. 2000; 2(4): 421-4.
18. Лазарева А.В., Чеботарь И.В., Крыжановская О.А., Чеботарь В.И., Маянский Н.А. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015; 17(3): 170-86.
19. Костюкова Н.Н., ред. *Руководство по медицинской микробиологии*. М.: Бином; 2013.
20. Шарипова М.Р., ред. *Микробные сидерофоры: классификация, применение, детекция и идентификация: Учебно-методическое пособие*. Казань: Казанский (Приволжский) федеральный университет; 2015.
21. Леонов В.В., Миронов А.Ю., Ананьина И.В., Рубальская Е.Е., Сентюрова Л.Г. Микробные сидерофоры: строение, свойства и функции. *Астраханский медицинский журнал*. 2016; 11(4): 24-37.

REFERENCES

1. Sukhov V.M., Sukhova E.V. Fundamentals of diagnosis and principles of treatment of respiratory diseases: Tutorial. [Osnovy diagnostiki i printsipy lecheniya zabolevaniy organov dykhaniya: Uchebnoe posobie]. Samara: Izdatel'stvo «Samarskiy voenno-meditsinskiy institut»; 2006. (in Russian)
2. Orlov A.V., Simonova O.I., Roslavtseva E.A., Shadrin D.I. Cystic

- fibrosis (clinical presentation, diagnosis, treatment, rehabilitation, clinical examination): A training manual for doctors. [Mukovistsidoz (klinicheskaya kartina, diagnostika, lechenie, reabilitatsiya, dispanserizatsiya): Uchebnoe posobie dlya vrachey]. St.Peterburg: Izdatel'stvo «Severo-Zapadnyi gosudarstvennyi meditsinskiy universitet imeni I.I. Mechnikova»; 2014. (in Russian)
3. Wilschanski M. Novel Therapeutic Approaches for Cystic Fibrosis. *Discovery medicine*. 2013; 15(81):127-33.
 4. Rowe S. M., Miller S., Sorscher E. J. Mechanisms of disease Cystic fibrosis. *The New England Journal of Medicine*. 2005; 352: 1992–2001.
 5. Hodson M., Geddes D., Bush A. *Cystic fibrosis*. London: Hodder Arnold; 2007. P. 503.
 6. Mehtaa G., Macek M., Jr., Mehtaa A. Cystic Fibrosis across Europe: EuroCare CF analysis of demographic data from 35 countries. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2010; 9: 5–21.
 7. Baranov A.A., Kapranov N.I., Kashirskaya N.Yu., Namazova-Baranova L.S., Sherman V.D., Simonova O.I. et al. Diagnostic problems of mucovistsidosis and ways of solution in Russia. *Pediatricheskaya farmakologiya*. 2014; 11(6): 16-23. (in Russian)
 8. Kondrat'eva E.I., Kashirskaya N.Yu., Kapranov N.I. National consensus "Cystic fibrosis: definition, diagnostic criteria, therapy." [Natsional'nyj konsensus «Mukovistsidoz: opredelenie, diagnosticheskie kriterii, terapiya»]. Moscow: Izdatel'stvo «Kompaniya BORGES»; 2016 (in Russian)
 9. Kapranov N.I., Kashirskaya N.Yu. *Mukovistsidoz. Sovremennye dostizheniya i aktual'nye problemy: Metodicheskie rekomendatsii. Izd. 4-e*. Moscow: Mediko-geneticheskij nauchnyi tsentr RAMN; 2011. (in Russian)
 10. Gorinova Yu.V., Simonova O.I., Tomilova A.YU., Roslavtseva E.A. The algorithm of complex syndrome-oriented therapy in children with cystic fibrosis: a modern approach. *Voprosy sovremennoy pediatrii*. 2013; 12(5): 30–8. (in Russian)
 11. Saperov V. N. Practical pulmonology: Textbook. [Prakticheskaya pul'monologiya: Uchebnoe posobie]. Cheboksary: Cheboksarskiy gosudarstvennyi universitet; 2006. (in Russian)
 12. Ivashchenko T.E., Baranov V.S., ed. Biochemical and molecular genetic basis of the pathogenesis of cystic fibrosis. [Biokhimicheskie i molekulyarno-geneticheskie osnovy patogeneza mukovistsidoza]. St.Peterburg: Intermedika; 2002. (in Russian)
 13. Vakhlarovskij V.G., ed. Cystic fibrosis: genetics, clinical presentation, pathogenesis, diagnosis, treatment, prevention: Methodical manual. [Mukovistsidoz: genetika, klinika, patogenez, diagnostika, lechenie, profilaktika: Metodicheskoe posobie]. St.Peterburg; St.-Peterburgskaya meditsinskaya akademiya; 2012. (in Russian)
 14. Chernick W. S., Barbero G. J. Composition of tracheobronchial secretions in cystic fibrosis of the pancreas and bronchiecstasis. *Pediatrics*. 1959; 24: 739–45.
 15. Potter J., Matthews L. W., Lemm J., Spector S. The composition of pulmonary secretions from patients with and without cystic fibrosis. *American Journal of Diseases of Children*. 1960; 100: 493–5.
 16. Rubin B.K. Mucus, phlegm, and sputum in cystic fibrosis. *Respiratory Care*. 2009; 54(6): 726-32.
 17. Kondratenko O.V., Lyamin A.V., Zhestkov A.V. Structure and antibiotic resistance microflora isolated from lower respiratory tract in patients with cystic fibrosis in Samara. *Prakticheskaya meditsina*. 2012; 1(56): 85-8. (in Russian)
 18. Surkova E.A., Bulgakova T.V., Sologub T.S., Ses' T.P., Aleshina G.M., Zhelenina L.A. et al. myeloperoxidase and lactoferrin from cytic fibrosis patietns. *Meditsinskaya immunologiya*. 2004; 6(1-2): 67-74. (in Russian)
 19. Pirogov A.B., Prikhod'ko A.G., Perel'man YU.M., Makarova G.A., Ushakova E.V. Activity of alpha-2-macroglobulin in asthma patients with cold airway hyperresponsiveness. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2017; 65: 31-7. (in Russian)
 20. Shapiro S.D. Proteinases in chronic obstructive pulmonary disease. *Biochemical Society transactions*. 2002; 30(2): 98–102.
 21. Lyamin A.V. Biological properties and factors of pathogenic strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different sources. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2010; 3-4: 220-2. (in Russian)
 22. Kondratenko O.V. Features of biological properties and pathogenicity factors of non-fermenting Gram-negative bacteria, isolated from patients. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2012; 1-2: 251-3. (in Russian)
 23. Chernogoryuk G.E., Mikhajlova A.A., Fedosenko S.V., Akbasheva O.E., Roslyakova E.P., Antipov S.I. et al. Antiproteas system activation in bronchial region is the factor of tolerance to chronic obstructive pulmonary disease at healthy long term smokers. *Sibirskiy nauchnyi meditsinskiy zhurnal*. 2010; 30(3): 124-9. (in Russian)
 24. Chodorowska G., Wojnowska D., Juszkiewicz-Borowiec M. C-reactive protein and α 2-macroglobulin plasma activity in medium-severe and severe psoriasis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2004; 18(2): 180–3.
 25. Zorin N.A., Zorina V.N., Zorina R.M. The role of macroglobulin family proteins in regulation of inflammation reactions. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2006; 52(3): 229–38. (in Russian)
 26. Bulgakova T.V., Ses' T.P., Surkova E.A., Dotsenko E.K., Zhelenina L.A., Gembitskaya T.E. Features of inflammatory process in patients with cystic fibrosis. *Meditsinskaya immunologiya*. 2000; 2(4): 421-4. (in Russian)
 27. Koller D.Y., Neithing I., Otto J., Urbaner R., Eichler I. Cytokine concentration in sputum from patients with cystic fibrosis and their relation to eosinophil activity. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1997; 155: 1050 – 4.
 28. Konstan M.W., Berger M. Current understanding of the inflammatory process in cystic fibrosis: onset and etiology. *Pediatric Pulmonology*. 1997; 24: 137 – 42.
 29. Ward C.G, Bullen J.J, Rogers H.J. Iron and infection: new developments and their implications. *The Journal of trauma*. 1996; 41: 356-64.
 30. Lazareva A.V., Tchebotar I.V., Kryzhanovskaya O.A., Tchebotar V.I., Mayanskiy N.A. *aeruginosa*: pathogenicity, pathogenesis and diseases. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2015; 17(3): 170-86. (in Russian)
 31. Kostyukova N.N., ed. Manual of Medical Microbiology. [Rukovodstvo po meditsinskoj mikrobiologii]. Moscow: Binom; 2013. (in Russian)
 32. Aaron T.Butt, Mark S.Thomas. Iron Acquisition Mechanisms and Their Role in the Virulence of Burkholderia complex. *Biometals*. 2008; 21(1): 105-6.
 33. Britigan B.E., Hayek M.B. , Doebbeling B.N. et al. Transferrin and lactoferrin undergo proteolytic cleavage in the *Pseudomonas aeruginosa*-infected lungs of patients with cystic fibrosis. *Infection and immunity*. 1993; 61(12): 5049-55.
 34. Sharipova M.R., ed. Microbial siderophores: classification, application, detection and identification: Teaching aid [Mikrobynye siderofory: klassifikatsiya, primenenie, detektsiya i identifikatsiya: Uchebno-metodicheskoe posobie]. Kazan': Kazanskiy (Privolzhskiy) federal'nyy universitet; 2015. (in Russian)
 35. Leonov V.V., Mironov A.Yu., Anan'ina I.V., Rubal'skaya E.E., Sentyurova L.G. Siderophores of microbes: structure, properties and functions. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2016; 11(4): 24-37. (in Russian)
 36. Weaver V.B.; Kolter R. Burkholderia spp. alter *Pseudomonas aeruginosa* physiology through iron sequestration. *Journal of bacteriology*. 2004; 186(8): 2376-84.
 37. Tyrrell J., Whelan N., Wright C., Sá-Correia I., McClean S., Thomas M. et al. Investigation of the multifaceted iron acquisition strategies of Burkholderia cenocepacia. *BioMetals*. 2015; 28(2): 367-80.
 38. Hunter R.C., Asfour F., Dingemans J., Osuna B.L., Samad T., Malfroot A. et al. Ferrous iron is a significant component of bioavailable iron in cystic fibrosis airways. *mBio*. 2013; 4(4). pii: e00557-13.

Поступила 15.11.18

Принята к печати 15.12.18