

Проблемы и достижения в изучении клинико-генетических аспектов муковисцидоза

Г.Р. Аюпова*, И.Р. Миннихметов, Р.И. Хусаинова

Республиканский медико-генетический центр, г. Уфа, Россия;
Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

Реферат

Муковисцидоз — частое наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, отличающееся выраженной генетической гетерогенностью, связанным с ней клиническим полиморфизмом, тяжёлым течением и прогнозом. Заболевание встречается в мире у представителей различных популяций и этнических групп, с равной частотой среди мужского и женского населения. В основе молекулярного патогенеза заболевания лежат нарушения синтеза, структуры и функции белка трансмембранного регулятора проводимости муковисцидоза (CFTR — от англ. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), что приводит к различным функциональным нарушениям в работе хлорных каналов. Как следствие этого увеличивается вязкость секретов и развивается экзокринопатия, что приводит к нарушению в работе многих органов и систем. Главная причина развития муковисцидоза — мутация в гене CFTR. Выделяют семь генетических классов мутаций в гене CFTR, они главным образом определяют тяжесть заболевания. Основным критерием в постановке диагноза «муковисцидоз» считают увеличение концентрации ионов хлора в секрете потовых желез более 60 ммоль/л при постановке потового теста классическим методом по Гибсону–Куку. Исключение составляет мутация в гене CFTR–3849+10kbC>T, ассоциированная с нормальным или пограничным результатом потовых проб. Долгое время лечение пациентов, страдающих муковисцидозом, было симптоматическим, при этом течение заболевания оставалось тяжёлым и приводило к ранней летальности пациентов. Однако в последние десятилетия современные достижения в области изучения молекулярно-генетических аспектов муковисцидоза позволили совершить научный прорыв в создании патогенетической терапии данного заболевания. Появились новые эффективные препараты, которые способствуют улучшению состояния здоровья пациентов и качества их жизни. Возрастает актуальность изучения молекулярного механизма заболевания для развития персонализированного подхода в лечении муковисцидоза, что является перспективным направлением на пути к обретению здоровья для данной категории пациентов.

Ключевые слова: муковисцидоз, история, генетика, клиническая картина, неонатальный скрининг, ДНК-диагностика, ген трансмембранный регулятор проводимости муковисцидоза CFTR, таргетная терапия.

Для цитирования: Аюпова Г.Р., Миннихметов И.Р., Хусаинова Р.И. Проблемы и достижения в изучении клинико-генетических аспектов муковисцидоза. *Казанский мед. ж.* 2022;103(4):628–640. DOI: 10.17816/KMJ2022-628.

REVIEW | DOI: 10.17816/KMJ2022-628

Problems and achievements in the study of clinical and genetic aspects of cystic fibrosis

G.R. Ayupova*, I.R. Minniakhmetov, R.I. Khusainova
Republican Medical Genetic Center, Ufa, Russia;
Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Abstract

Cystic fibrosis is a common hereditary autosomal recessive disease characterized by pronounced genetic heterogeneity, associated clinical polymorphism, severe course and prognosis. The disease occurs worldwide in representatives of various populations and ethnic groups, with equal frequency among the male and female population. The

*Для переписки: guzel8319@gmail.com

Поступила 01.11.2021; принята в печать 22.12.2021;

опубликована: 10.08.2022.

© Эко-Вектор, 2022. Все права защищены.

*For correspondence: guzel8319@gmail.com

Submitted 01.11.2021; accepted 22.12.2021;

published: 10.08.2022.

© Eco-Vector, 2022. All rights reserved.

molecular pathogenesis of the disease is based on disturbances in the synthesis, structure and function of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein (CFTR), which leads to various functional disorders in the work of chloride channels. As a result, the viscosity of secretions increases and exocrinopathy develops, which leads to disruption in the functioning of all organs and systems. The main cause of cystic fibrosis is a mutation in the CFTR gene. There are seven genetic classes of mutations in the CFTR gene, they mainly determine the severity of the disease. The main criterion in the diagnosis of cystic fibrosis is an increase in the concentration of chlorine ions in the secretion of sweat glands of more than 60 mmol/l when performing a sweat test using the classical Gibson–Cook method. An exception is a mutation in the CFTR–3849+10kbC>T gene, which is associated with a normal or borderline sweat test result. For a long time, the treatment of patients suffering from cystic fibrosis was symptomatic, while the course of the disease remained severe and led to early mortality of patients. However, in recent decades, modern achievements in the field of studying the molecular genetic aspects of cystic fibrosis have made it possible to make a scientific breakthrough in the creation of pathogenetic therapy for this disease. New effective drugs that improve the health of patients and their quality of life have appeared. The relevance of studying the molecular mechanism of the disease for the development of a personalized approach in the treatment of cystic fibrosis is increasing, which is a promising direction on the way to gaining health for this category of patients.

Keywords: cystic fibrosis, history, genetics, clinical picture, neonatal screening, DNA diagnostics, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene (CFTR), targeted therapy.

For citation: Ayupova GR, Minniakhmetov IR, Khusainova RI. Problems and achievements in the study of clinical and genetic aspects of cystic fibrosis. *Kazan Medical Journal*. 2022;103(4):628–640. DOI: 10.17816/KMJ2022-628.

Введение

Муковисцидоз (кистозный фиброз) — самое частое наследственное клинически и генетически гетерогенное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, основная причина развития которого — мутации в гене трансмембранного регулятора проводимости муковисцидоза (CFTR — от англ. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), в результате чего нарушается работа всех желез внутренней секреции и функции жизненно важных органов и систем. Заболевание встречается во всех странах мира, но существуют выраженные популяционные различия по его частоте с уменьшением градиента распространения с Севера на Юг и с Запада на Восток Евразии [1, 2]. Муковисцидоз встречается с равной частотой у людей обоих полов. Серьёзная проблема заключается в том, что больные дети рождаются в «здоровых семьях», поэтому определение гетерозиготного носительства — важная задача современного здравоохранения для оценки риска рождения больных детей [2].

По данным национальных регистров, в мире сегодня живут приблизительно 70 000 человек с установленным диагнозом «муковисцидоз» [2]. В России эту патологию выявляют с частотой 1:4900 новорождённых [2]. Ежегодно в России диагностируют около 150 новых случаев муковисцидоза. Общее количество больных муковисцидозом в России по данным Росстата на 1 января 2019 г. составляло 3645 человек. Частота муковисцидоза в Российской Федерации 2,5 на 100 тыс. населения согласно данным Регистра больных муковисцидозом от 2018 г. [3].

В Регистр больных муковисцидозом Российской Федерации вошли данные о 3142 пациентах из 81 региона Российской Федерации. ДНК-диагностика¹ проведена у 94,3%, среди них у 89,3% выявлена мутация в гене CFTR, две мутации обнаружены у 82,4%. У 14% выявлена одна мутация, у 3,7% больных генетических вариантов не выявлено [3].

В Республике Башкортостан по данным Республиканской медицинской информационно-аналитической системы на 1 января 2021 г. зарегистрированы 95 пациентов с различными формами муковисцидоза. На базе ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр» проведена ДНК-диагностика у всех пациентов с установленным диагнозом «муковисцидоз». Наиболее частой мутацией у пациентов из Республики Башкортостан бывает F508del, которая встречается на 46,15% хромосом. У 16 пациентов с муковисцидозом мутация F508del встречается в гомозиготном состоянии (17,6%), у 52 — в гетерозиготном состоянии (57,4%), у 45 пациентов данная мутация сочетается с другими мутациями и представляет компаунд-гетерозиготный вариант.

Среди них 12 больных детского возраста, имеющих мутацию F508del в гомозиготном состоянии; им проведено генетическое обследование с целью исключения наличия в генотипе варианта L467F, при котором лекарственный препарат ивакафтор + лумакафтор неэффективен [4]. У 1 пациента обнаружена данная мутация.

¹ ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота.

Второй по частоте оказалась известная мутация E92K [с.274G>A; р.(Glu92Lys)], которая выявлена на 10,44% хромосом. Данная мутация ни разу не встречалась в гомозиготном состоянии, все выявленные случаи — компаунд-гетерозиготные варианты, у 14 пациентов мутация E92K сочетается с вариантом F508del (15,38%).

Третья мажорная мутация — CFTRdele2-3, частота составила 6,04%, выявлена у 8 пациентов в компаунд-гетерозиготном состоянии (8,79%), а у 3 пробандов вторая мутация не идентифицирована.

Таким образом, обнаружены популяционные особенности молекулярного механизма развития муковисцидоза у пациентов из Республики Башкортостан, что позволяет повысить эффективность ДНК-диагностики. Выявлены 11 пациентов детского возраста, гомозиготных по мутации F508del, для которых эффективна существующая в настоящее время таргетная терапия — комбинация ивакафтор (потенциатор белка CFTR) + лумакафтор (корректор белка CFTR) [4]. Цель патогенетического лечения — повышение количества активного белка CFTR на поверхности клеток экзокринных желёз, повышение лёгочной функции, снижение частоты лёгочных обострений и замедление прогрессирования заболевания [5–7].

История изучения муковисцидоза

Муковисцидоз известен с древности. В средние века среди европейских народов считали, что ребёнок, при поцелуе которого ощущается солёный привкус на губах, обречён на скорую смерть, но объяснить патогенез заболевания не удавалось [8]. С развитием научных знаний развивались и представления о природе заболевания. В 1936 г. один из основоположников современной педиатрии Guido Fanconi впервые описал муковисцидоз. Он совместно с командой докторов выявил и описал первые случаи кистозного фиброза поджелудочной железы и бронхоэктазы у детей, указав на семейный характер заболевания. Затем в 1938 г. вышла монография американского патологоанатома D.H. Andersen «Кистозный фиброз поджелудочной железы и его взаимоотношение с целиакией». Таким образом, заболевание было выделено в самостоятельную нозологическую единицу, и в его терапии начали применять панкреатический фермент [9].

В 1946 г. термин «муковисцидоз» (лат. *mucus* — слизь, *viscus* — вязкий) ввёл американский педиатр S. Farber. Он указал на вторичный характер поражения внутренних органов при этом заболевании в связи с обструкцией вязкой слизью выводных протоков желёз [10].

Во второй половине XX века учёные J. West и Paudi Sant'Agnese впервые описали функциональное состояние и ателектазы в лёгких у детей с муковисцидозом. Изначально муковисцидоз называли «болезнью солёного поцелуя», это наблюдение позволило в 1953 г. педиатрам из США во главе с Paudi Sant'Agnese изучить симптом повышенного содержания хлоридов в поте у больных муковисцидозом, что дало возможность в 1959 г. L.E. Gibson и R.E. Cook применить пилокарпиновый тест для проведения потовой пробы, который и сегодня остаётся главным диагностическим критерием ранней диагностики муковисцидоза [2].

Доктора H. Shwachman и L. Kulczycki представили медицинской общественности разработанную ими систему клинической оценки тяжести заболевания, которая актуальна по настоящее время [11]. Лёгочная инфекция бывает ведущей причиной смертности при муковисцидозе. С приходом эры применения антибиотикотерапии удалось увеличить продолжительность жизни больных. Также учёные того времени понимали важность ранней постановки диагноза, особое значение придавали ежедневной кинезитерапии [2].

В 1949–1953 гг. H. Shwachman и N. Hoiby провели исследования эффективности антибиотикотерапии, и на основе их данных в схему лечения муковисцидоза с конца 1970-х годов были внедрены регулярные (1 раз в 3 мес) курсы внутривенной антибактериальной терапии препаратами с антисинегнойной активностью [12].

С 1999 г. для контроля инфекции, вызванной *P. aeruginosa*, начато применение ингаляционного тобрамицина — аминогликозида с антисинегнойной активностью, имеющего минимум побочных эффектов и хорошую переносимость [13]. Исследования под руководством B. Ramsey показали достоверное улучшение объёма форсированного выдоха на 10% за 20 мес наблюдения и уменьшение количества обострений, тогда как в группе плацебо была отрицательная динамика [13].

В 1964 г. L. Matthews изложил универсальный комплексный подход к терапии заболевания: борьба с обструкцией дыхательных путей и вторичной инфекцией, коррекция панкреатической недостаточности и дефицита питания. Данная концепция легла в основу работы центров муковисцидоза [14].

В 1978 г. R. Крамер доказал, что высококалорийное питание с использованием очень высоких доз панкреатических ферментов эффективно для больных муковисцидозом, тесно

коррелирует с выживаемостью, а дефицит веса существенно ухудшает прогноз [15].

В 1989 г. совместная работа группы учёных из Канады и США под началом доктора Lar-Chee Tsui выявила мажорный ген, который получил название «трансмембранный регулятор проводимости муковисцидоза» (CFTR) [16]. Началась эпоха ДНК-диагностики муковисцидоза с поиском мутаций, вовлечённых в патогенез заболевания.

В 1990 г. новым прорывом в лечении муковисцидоза стал генно-инженерный муколитик дорназа альфа. К концу года применения дорназы альфа у больных происходит увеличение объёма форсированного выдоха за 1-ю секунду на 7,3%, снижается инфицирование синегнойной палочкой дыхательных путей. Установлено, что как краткосрочное (от 1 нед до 2 мес), так и долгосрочное (от 1 до 4 лет) лечение дорназой альфа снижало частоту обострений бронхолёгочного процесса, значительно замедляло регресс объёма форсированного выдоха за 1-ю секунду, улучшало нутритивный статус, а также оказывало выраженное противовоспалительное действие [17].

В 1993 г. для терапии муковисцидоза начали применять инновационный препарат панкреатин (мини-микросферы в кишечнорастворимой оболочке), он улучшил нутритивный статус больных муковисцидозом [18].

Большой вклад в изучение муковисцидоза внесли отечественные учёные. У истоков исследования проблемы муковисцидоза в бывшем СССР стояли профессора С.В. Рачинский, В.К. Таточенко, Н.И. Капранов. Российские учёные К.К. Примбетов, М.Я. Ниязова, А.Б. Абилов, М.Г. Георгобиани, И.Е. Турина, Л.А. Петросян, Н.Ю. Каширская, О.И. Симонова, Т.Е. Гембицкая, Л.А. Желенина, А.Г. Черменский, Л. Ковалёва, В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, А.Г. Чучалина, Л. Кронина, Е.Л. Амелина, С.А. Красовский, В.А. Самойленко, М.В. Самсонова, А.Л. Черняев, А.В. Черняк, С.Н. Авдеев и другие проводили исследования патофизиологических и патоморфологических особенностей, микробиологического статуса у пациентов, иммунологических, микроциркуляторных, сердечно-сосудистых нарушений, поражения желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы, клинико-функциональной эффективности кинезитерапии при муковисцидозе. Они уделяли внимание совершенствованию методов лечения муковисцидоза и медико-генетического консультирования семей. Генетику муковисцидоза в нашей стране изучают

учёные С.И. Куцев, Е.К. Гинтер, Е.И. Кондратьева, Н.В. Петрова, В.С. Баранов, Т.Э. Иващенко, С.А. Красовский, О.И. Голубцова, С.Л. Кожевникова, Г.В. Павлов и др. [19].

С 1990 г. в России открывается сеть центров по оказанию специализированной помощи пациентам с муковисцидозом. В настоящий момент в Российской Федерации функционирует сеть из 57 региональных центров диагностики и лечения детей и 10 центров для взрослых, больных муковисцидозом, возглавляемых научно-консультативным отделом муковисцидоза Медико-генетического научного центра Российской академии медицинских наук [19, 20].

Значительное улучшение ранней диагностики заболевания достигнуто в 2006 г. после внедрения программы обязательного неонатального скрининга на муковисцидоз [3]. Комплексный мультидисциплинарный подход к ранней диагностике и своевременной терапии заболевания способствовал увеличению продолжительности жизни больных [20].

Были проведены глубокие исследовательские поиски, и достигнут прогресс в понимании последствий мутаций в гене для структуры и функции белка CFTR. Созданы методы лечения, специфичные для мутаций, но в настоящее время они доступны только для определённых мутаций [21]. Продолжаются разработки ряда других соединений с иными механизмами действия. Можно предвидеть, что новые комбинации соединений улучшат коррекцию функции белка CFTR. Развитие новых стратегий, таких как создание препаратов для преждевременного считывания стоп-кодонов, антисмысловых олигонуклеотидов, которые будут исправлять основной дефект на уровне матричной рибонуклеиновой кислоты, редактирование гена для восстановления дефектного гена, генной терапии, позволит влиять на патогенез заболевания, что повысит эффективность лечения для всех пациентов с муковисцидозом [22].

Клинические аспекты заболевания

Муковисцидоз характеризуется широким спектром клинических проявлений. Заболевание можно заподозрить по ряду признаков (табл. 1, 2). Обусловленные муковисцидозом нарушения в поражённых органах разнообразны как по степени тяжести, так и по скорости прогрессирования. Болезнь обнаруживают при рождении, чаще на 1-м году жизни, иногда в зрелом возрасте.

В настоящее время существует классификация, принятая Всемирной организацией здравоохранения, Международной ассоциацией

Таблица 1. Клинические проявления, требующие дифференциальной диагностики с муковисцидозом [21]

Возраст	Симптомы и синдромы
Грудной	Рецидивирующие или хронические респираторные симптомы, такие как кашель или одышка, рецидивирующая или хроническая пневмония, отставание в физическом развитии, неоформленный, обильный, маслянистый и зловонный стул, хроническая диарея, выпадение прямой кишки, затяжная неонатальная желтуха, солёный вкус кожи, тепловой удар или дегидратация при жаркой погоде, хроническая гипонатриемия, данные семейного анамнеза о смерти детей на 1-м году жизни или наличие сибсов со сходными клиническими проявлениями, гипопроотеинемия/отёки, мекониевый илеус
Дошкольный	Стойкий кашель с гнойной мокротой или без неё, диагностически неясная рецидивирующая или хроническая одышка, хронический гнойный/полипозно-гнойный синусит, отставание в весе и росте, выпадение прямой кишки, инвагинация, хроническая диарея, симптом «барабанных палочек», кристаллы соли на коже, гипотоническая дегидратация, гипонатриемия и метаболический алкалоз, гепатомегалия или диагностически неясное нарушение функции печени
Школьный	Хронические респираторные симптомы неясной этиологии, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в мокроте, хронический синусит, назальный полипоз, бронхоэктазы, симптом «барабанных палочек», хроническая диарея, синдром дистальной интестинальной обструкции, панкреатит, выпадение прямой кишки, сахарный диабет в сочетании с респираторными симптомами, гепатомегалия, заболевание печени неясной этиологии
Подростки и взрослые	Гнойное заболевание лёгких неясной этиологии, симптом «барабанных палочек», панкреатит, синдром дистальной интестинальной обструкции, сахарный диабет в сочетании с респираторными симптомами, признаки цирроза печени и портальной гипертензии, отставание в росте, задержка полового развития, инфертильность с азооспермией у пациентов мужского пола, снижение фертильности у больных женского пола

Таблица 2. Клинические проявления, характерные для муковисцидоза [21]

Высокоспецифичные для муковисцидоза	Менее специфичные для муковисцидоза
<i>Со стороны системы пищеварения.</i> Мекониевый илеус. Экзокринная недостаточность поджелудочной железы у детей	<i>Со стороны системы пищеварения.</i> Отставание в физическом развитии, гипопроотеинемия, дефицит жирорастворимых витаминов, синдром дистальной интестинальной обструкции, ректальный пролапс, билиарный цирроз, портальная гипертензия, желчнокаменная болезнь у детей без гемолитического синдрома, первичный склерозирующий холангит, экзокринная недостаточность поджелудочной железы у взрослых, рецидивирующий панкреатит
<i>Со стороны дыхательных путей.</i> Хроническая инфекция, вызванная муконидной формой <i>Ps. aeruginosa</i> . Бронхоэктазы в верхних долях обоих лёгких. Персистирующая инфекция, вызванная <i>B. ceracia</i> . Хронический гнойный/полипозно-гнойный синусит	<i>Со стороны дыхательных путей.</i> Хроническая или рецидивирующая инфекция, вызванная <i>S. aureus</i> , <i>Ps. aeruginosa</i> , <i>A. xiloxoxidans</i> , <i>H. influenzae</i> . Рентгенологические признаки бронхоэктазов, ателектазов, гиперинфляции или хроническая инфильтрация на рентгенограмме органов грудной полости, кровохарканье, связанное с диффузным поражением лёгких, отличным от туберкулёза или васкулита, хронический и/или продуктивный кашель, аллергический бронхолёгочный аспергиллёз. Хронический гнойный/полипозно-гнойный синусит, рентгенологические признаки хронического пансинусита
<i>Другое.</i> Синдром электролитных нарушений. Врождённое двустороннее отсутствие семявыносящих протоков	<i>Другое.</i> Утолщение концевых фаланг. Остеопения/остеопороз в возрасте <40 лет. Нетипичный сахарный диабет

муковисцидоза, Европейской ассоциацией муковисцидоза [21].

1. Классический муковисцидоз с панкреатической недостаточностью (смешанная или лёгочно-кишечная форма заболевания) — E84.8.

2. Классический муковисцидоз с ненарушенной функцией поджелудочной железы (преимущественно лёгочная форма заболевания) — E84.0.

3. Неопределённый диагноз при положительном неонатальном скрининге на муковисцидоз — E84.9.

4. Заболевания, ассоциированные с геном CFTR:

- изолированная обструктивная азооспермия;
- хронический панкреатит;
- диссеминированные бронхоэктазы.

При муковисцидозе может вторично развиваться остеопороз — развитие низкой костной массы связано с мутациями и/или их комбинациями (F508del и др.) [23].

В клинической практике в Российской Федерации используют другую классификацию (табл. 3) [13].

Таблица 3. Клиническая классификация муковисцидоза. Предложена на основе Рабочей классификации муковисцидоза (Рачинский С.В., Капранов Н.И., 2000), рекомендаций Всемирной организации здравоохранения и Европейской ассоциации муковисцидоза. Опубликовано: https://mukoviscidoz.org/doc/konsensus/CF_consensus_2017.pdf [20]

Форма	Характеристика бронхолёточных изменений			Проявления	Осложнения
	Клиническая	Фаза и активность процесса	Степень дыхательной недостаточности		
Классический муковисцидоз. Смешанная или лёгочно-кишечная форма заболевания (муковисцидоз с панкреатической недостаточностью — E84.8). Лёгочная форма заболевания (муковисцидоз с нарушенной функцией поджелудочной железы — E84.0)	Хронический обструктивный бронхит. Бронхоэктазы (локализованные и диссеминированные) с указанием локализации. Пневмофиброз	Вне обострения. Обострение. Тип обострения: – обострение хронического бронхита; – пневмония (с указанием локализации); – смешанный тип	I II III	Хронический (гнойный, полипноэ-гнойный) риносинусит. Синдром псевдо-Барггера. Азооспермия. Рецдивизирующий панкреатит	Абсцессы, ателектазы, пневмопоторакс, кровохарание, кровотечение (лёгочное, желудочное), аллергический бронхолёточный аспергиллёз, лёгочная гипертензия, полипоз носа. Мекониевый илеус, эквиваленты мекониевого илеуса, выпадение прямой кишки. Цирроз печени (без и с портальной гипертензией). Желчнокаменная болезнь. Отставание в физическом развитии. Белковоэнергетическая недостаточность. Нарушение толерантности к углеводам. Муковисцидоз-ассоциированный сахарный диабет. Снижение минеральной плотности костной ткани. Вторичный остеопороз. Амилоидоз почек. Сиалоаденит. Витамин К-дефицитные состояния (геморрагическая болезнь)
	Генотип (мутации гена CFTR)				Указать согласно базе данных CFTR2.org и Консенсусу по клиническим эффектам генетических вариантов (база данных: SeqDBhttp:// seqdb.medgen.ru/)
	Микробиологический статус: указать дату первичного высева (выявления) микробного патогена (патогенов) и, если есть, последнего				Стафилококковая инфекция. Синегнойная инфекция. Инфекция, вызванная <i>V. seraciacomplex</i> . Другие инфекции. Микробные ассоциации
	Другие формы. Неопределённый диагноз при положительном неонатальном скрининге на муковисцидоз — E84.9. Заболевание, ассоциированное с геном CFTR: – изолированная обструктивная азооспермия; – хронический панкреатит; – диссеминированные бронхоэктазы				—

Диагностика муковисцидоза

В последние десятилетия активно совершенствуются алгоритмы диагностики муковисцидоза. Понимание молекулярного механизма развития этого заболевания при различных вариантах мутаций в гене CFTR позволяет сегодня достичь высоких результатов в реализации мероприятий, способствующих восстановлению функции дефектного белка CFTR [23]. Для дальнейшего совершенствования оказания медико-генетической помощи пациентам необходимо провести комплексные исследования и выявить все закономерности его развития, чтобы эффективно развивать патогенетическую терапию, это шанс для больных на выздоровление.

Результаты клинических исследований показали, что наибольший эффект от лечения достигается только у детей, в лёгких которых ещё не успели развиться необратимые патологические изменения. Таким образом, стало ясно, что ранняя диагностика и терапия предотвращают развитие тяжёлых проявлений заболевания [24]. С целью раннего выявления муковисцидоза реализуется программа неонатального скрининга.

В 1979 г. команда исследователей из Новой Зеландии под руководством J. Crossley продемонстрировала повышение в плазме крови новорождённых с муковисцидозом содержания иммунореактивного трипсина [24]. Данное открытие легло в основу современного протокола неонатального скрининга заболевания. Ранняя диагностика даёт возможность своевременно начать адекватную терапию, что ведёт к значительному улучшению качества и продолжительности жизни больных. Кроме того, проведение неонатального скрининга и идентификация CFTR-генотипа новорождённых с муковисцидозом предполагает более раннее генетическое консультирование пациентов, что может повлиять на репродуктивное поведение супругов и их родственников [25].

Протокол неонатального скрининга на муковисцидоз в России включает четыре этапа:

- определение иммунореактивного трипсина в сухом пятне крови;
- ретест — повторное определение иммунореактивного трипсина в сухом пятне крови;
- потовый тест;
- ДНК-диагностика.

Причём только первые три являются обязательными. ДНК-диагностика доступна не для всех пациентов по различным причинам; в первую очередь, это отсутствие государственного финансирования такого направления исследований [26].

По данным Европейского консенсуса, повышение показателя иммунореактивного трипсина в сухом пятне крови в неонатальном периоде встречается при перинатальном стрессе, гипербилирубинемии новорождённых, трисомиях 13-й и 18-й хромосом, у детей с врождёнными инфекциями, почечной недостаточностью и атрезией тонкой кишки, а также в случае нефрогенного несахарного диабета [27, 28].

Популяционное распределение концентраций иммунореактивного трипсина в крови в период новорождённости несколько выше у детей североафриканского происхождения и афроамериканцев [29], чем у детей из Северной Европы, поэтому всем пациентам необходимо дополнительное обследование. В связи с этим биохимический скрининг в неонатальном периоде не является окончательным методом диагностики. Тем не менее, неонатальный скрининг на муковисцидоз оправдан, так как продолжительность жизни больных, выявленных с помощью скрининга, выше, чем у пациентов, у которых заболевание было установлено в более старшем возрасте [25].

Благодаря развитию технологий ДНК-диагностики достигнут значительный прогресс в реализации программ скрининга новорождённых на муковисцидоз, поэтому ДНК-диагностика становится частью всё большего количества стратегий диагностики этого заболевания в регионах Российской Федерации [23]. Наиболее эффективный алгоритм ДНК-диагностики муковисцидоза на сегодняшний день следующий:

- первый этап — поиск вариантов наиболее частых мутаций в популяции, к которой принадлежит обследуемый;
- второй этап — расширенный поиск более редких вариантов с использованием секвенирования по Сенгеру или высокопроизводительного секвенирования генома нового поколения (MPS/NGS).

Анализ включает исследование всей кодирующей последовательности гена CFTR (27 экзонов), областей экзон-интронных соединений, 5- и 3-некодирующих областей (до 200–300 нуклеотидов), а также (желательно) глубоких интронных областей, где расположены варианты с доказанной патогенностью [23]. Применение данного метода необходимо при назначении CFTR-модуляторов с целью исключения комплексных аллелей, влияющих на эффективность терапии, например диагностика в генотипе варианта L467F, при котором лекарственный препарат ивакафтор + лумакафтор неэффективен [23].

Третий этап — обычными сканирующими методами, в том числе секвенированием, можно

выявить нарушения последовательности гена, незначительные по протяжённости, нуклеотидные замены, небольшие делеции/инсерции. Рестройки, охватывающие несколько экзонов/интронов, вышеназванными методами не выявляются, поэтому применяют технологии MLPA (мультиплексная лигазная зондовая амплификация) либо QFMP (количественная флюоресцентная мультиплексная полимеразная цепная реакция) [23].

С целью обеспечения персонализированного подхода при подборе *in vitro* таргетной терапии всем пациентам с муковисцидозом, включая носителей редких генетических вариантов, целесообразно применение метода определения разности кишечных потенциалов и форсколинового теста на кишечных органоидах, получаемых из ректальных биоптатов пациентов, с анализом функциональных, микробиологических, лабораторных методов исследования состояния здоровья больного [30, 31]. И далее вместе с назначением таргетной терапии необходимо учитывать индивидуальный подбор диеты и ферментов, энтерального питания, гастростомы при необходимости и антибиотиков. Такова модель персонализированного подхода к диагностике и терапии муковисцидоза [23].

Молекулярный патогенез муковисцидоза

Муковисцидоз характеризуется широкой вариабельностью клинических проявлений, обусловленной большим количеством мутаций в гене трансмембранного регулятора проводимости муковисцидоза — CFTR, который локализован на длинном плече 7-й хромосомы, содержит 27 экзонов и охватывает 250 000 пар нуклеотидов.

По состоянию на 31.07.2020 на веб-сайте международного проекта CFTR2 (<https://cftr2.org>) представлено 360 патогенных генетических вариантов нуклеотидной последовательности гена CFTR. Они препятствуют синтезу белка CFTR, его транспорту к апикальной мембране клетки или нарушают его функцию в качестве канала анионов хлора.

Продукт гена CFTR относится к суперсемейству аденозинтрифосфат-связывающих кассетных протеинов (ABC-ATP-bindingcassette), является трансмембранным белком, который располагается на поверхности большинства эпителиальных клеток и функционирует как циклический аденозинмонофосфат-зависимый хлорный канал [32]. Функционально белок CFTR проницаем для ионов хлора, более крупных органических анионов и восстановленных и окисленных форм глутатиона. Вну-

триклеточный глутатион поверхностного эпителия дыхательных путей защищает клетки от апоптоза, вызванного окислительным стрессом [33]. Исследования показали, что экспрессия гена CFTR при муковисцидозе характеризуется усиленным оттоком глутатиона из эпителиальных клеток дыхательных путей, что указывает на роль CFTR в контроле окислительного стресса в дыхательных путях [33].

Глутатион считают одним из важнейших внутри- и внеклеточных антиоксидантов организма, обеспечивающим защиту лёгких от воздействия высоких уровней активных форм кислорода. Окислительно-восстановительный статус глутатиона также участвует в регуляции воспаления и иммунного ответа, при этом его дефицит усугубляет воспаление и повреждение дыхательных путей. Помимо того, что глутатион действует как антиоксидант, он также способствует поддержанию нормальной физиологии дыхательных путей, изменяя вязкость слизи за счёт уменьшения дисульфидных связей в секретируемых муцинах. Более того, недавние результаты показывают, что CFTR-зависимый поток глутатиона может вносить вклад в дифференциальную чувствительность эпителиальных клеток к индуцированному окислительным стрессом апоптозу [34].

В зависимости от влияния на функцию белка CFTR все варианты нуклеотидной последовательности гена CFTR подразделяют на 7 основных классов — мутации I и VII классов препятствуют синтезу белка CFTR, мутации II класса вызывают нарушение фолдинга белка и снижение его количества, при остальных классах мутаций происходит формирование нефункционального CFTR, нарушается его транспорт к апикальной мембране клетки или снижается проводимость для анионов хлора (табл. 4) [35]. Это упрощённая схема, так как один и тот же вариант может вызвать несколько видов нарушения работы белка, и не для всех вариантов нуклеотидной последовательности гена CFTR определён класс. В таких случаях отмечают, что класс «не определён» [20].

Фенотипические проявления муковисцидоза зависят не только от генетического дефекта и типа мутации CFTR, но от действия генов-модификаторов, находящихся вне локуса CFTR, например Z-аллель гена SERPINA1 (α_1 -antitrypsin или α_1 -antiprotease) и аллель A VNTR полиморфного гена eNOS4 [20], и от факторов окружающей среды, включая ятрогенные.

Генетические варианты I–III и VII классов приводят к полному или почти полному прекращению функционирования хлорного канала

Таблица 4. Характеристика классов мутаций в гене CFTR [32]

Класс	Патологический процесс	Мутации
I	Белок не синтезируется	G542X, W1282X, R553X, 621+1C>T, 2143delT, 1677delTA
II	Белок не сворачивается	F508del, N1303K, I507del, S549I, S549R
III	CFTR-канал не функционирует	G551D, G1244E, S1255P
IV	Функция CFTR-канала снижена	R334W, R347P, R117H
V	Снижено количество белка	3849+10kbC>T, A455E, IVS8(5T), 1811+1,6kbA>G
VI	Белок нестабильный	S1455X
VII	Нет матричной рибонуклеиновой кислоты	CFTRdele2,3(21kb). Протяжённые перестройки гена CFTR

и относятся к «тяжёлым». Генетические варианты IV–VI классов относятся к группе «мягких» в связи с сохранением остаточной активности хлорного канала и экзокринной панкреатической функции. «Мягкие» варианты доминируют над «тяжёлыми» в отношении панкреатического фенотипа. При использовании метода секвенирования выявляют новые генетические варианты гена CFTR при муковисцидозе [32].

В целом пациенты, гомозиготные по мутациям классов I–III, проявляют фенотип, связанный с панкреатической недостаточностью, более высокой частотой осложнений в виде мекониевого илеуса, преждевременной смертностью, более ранним и более серьёзным ухудшением функции лёгких и тяжёлым поражением печени. Мутации классов IV–V обычно связаны с более лёгким течением поражения лёгких, пожилым возрастом на момент смерти, недостаточностью поджелудочной железы. Мутации классов IV–V являются фенотипически доминирующими, если встречаются в сочетании с мутациями классов I–III [3].

Популяционная частота носительства мутаций гена CFTR среди фенотипически здоровых людей в Российской Федерации составляет 1 случай на 30 человек [3], что сопоставимо с мировыми данными [35, 36]. Спектр мутаций, ассоциированных с развитием муковисцидоза у российских больных, существенно отличается от европейского. Как и в нашей стране, в Европе наиболее распространена мутация F508del, однако в Европе её идентифицируют чаще — в 61,5% случаев [37]. На втором месте по распространённости в Европе находится мутация G542X с частотой 2,6%, далее следует мутация N1303K (2,1%). Доля невыявленных мутаций CFTR — 9,6% [37].

Вторая по частоте среди российских больных мутация — CFTRdele2,3 (21 kb). Она обнаружена в 5,7% исследованных хромосом. С частотой более 0,2% внутри российской

популяции больных встречаются мутации 3849+10kbC>T, 2184insA, W1282X, 2143delT, N1303K, G542X, 1677delTA, L138ins, R334W, 394delTT, 3821delT, 2789+5G>A, S466X(TGA), S1196X, 3272-16T>A, W1282R, 3944delGT, R1066C, c.1243-1247del [37]. В 31% случаев мутации CFTR остаются неидентифицированными [37], что требует совершенствования ДНК-диагностики [3, 37, 38].

Различия спектра и частоты мутаций внесут определённые сложности в разработку протоколов ДНК-диагностики муковисцидоза и генетического консультирования населения разных этнических групп в различных регионах. Хотя вариабельность клинического течения муковисцидоза, несомненно, обусловлена многочисленностью генотипов, но различия в течении заболевания у пациентов с одинаковыми мутациями (в частности, у сибсов) предполагают влияние на клиническую картину муковисцидоза многих факторов: CFTR-мутаций, различных генов-модификаторов как в гене CFTR, так и в других генах, также велико и влияние факторов окружающей среды, включая терапию [3].

Проблема муковисцидоза требует дальнейшего изучения и проведения эпидемиологических исследований, оценки клинико-генетических особенностей заболевания, совершенствования ранней диагностики, лечения и профилактики заболевания; получения точных данных о распространённости муковисцидоза в целом и его клинических форм. В настоящее время существующие панели не позволяют выявить все патогенные варианты гена, поэтому ещё не определены частота и спектр мутаций, участвующих в патогенезе заболевания, носительство патогенных вариантов у членов семей [3]. Важный момент — определение распространённости частых мутаций среди больных муковисцидозом в популяциях с разным этническим составом.

Научный интерес представляет определение взаимосвязи клинических форм, характера нарушения функций отдельных органов и систем, особенностей течения муковисцидоза с типом мутации патологического гена, а также применение современной таргетной терапии с целью совершенствования профилактических и лечебных мероприятий [32].

Понимание молекулярного механизма развития муковисцидоза при различных генетических вариантах мутаций гена CFTR позволит определить прогноз течения заболевания и использовать современные технологии для восстановления функции дефектного белка CFTR [32].

Таргетная терапия муковисцидоза

Базисная терапия муковисцидоза в настоящее время направлена на замедление патологических процессов, связанных со снижением активности белка CFTR в желудочно-кишечном тракте и респираторной системе [32]. Панкреатическая недостаточность хорошо компенсируется заместительной терапией микросферическими ферментами, потреблением высококалорийной, богатой белками и жирами диетой. Постоянное лечение болезни лёгких, обусловленной муковисцидозом, нацелено на улучшение клиренса бронхиального дерева, подавление хронической бактериальной инфекции и местного хронического воспаления [32].

Ведущие специалисты во всём мире ищут способ исправить генетический дефект, изыскания ведут в двух направлениях: генотерапия (замена гена) и фармакогенетика [35].

Муковисцидоз — из числа первых заболеваний, для которых начались разработки генной терапии. Проводятся революционные исследования по таргетному редактированию гена CFTR с помощью CRISPR/Cas9, которое открывает новые возможности для этиотропного лечения, так как позволяет исправить мутации в клетках [39]. Однако полная замена мутантного гена нормальной копией пока невозможна, но идентифицированы малые молекулы, способные модифицировать мутантный белок CFTR таким образом, что его функция приближается к нормальной. Возможности применения таргетной терапии в настоящее время остаются горячей темой для обсуждения.

На сегодняшний день перспективно развитие таргетной терапии муковисцидоза, которую применяют с учётом эффекта мутаций. Выделяют несколько классов препаратов.

1. *CFTR-модуляторы*. В настоящее время в клинической практике фармакологическое модулирование ионного транспорта возмож-

но только с использованием модуляторов CFTR — корректоров и потенциаторов. Корректоры — лекарственные вещества, позволяющие мутантному белку CFTR пройти через систему внутриклеточного качественного контроля и занять правильное расположение на апикальной мембране (при мутациях II класса) — 4-фенилбутират/генистеин, аналог силденафила-КМ11060, куркумин, VX-809, VX-661. Мишенью для потенциаторов становятся молекулы мутантного белка CFTR, располагающиеся в апикальной мембране. Действие потенциаторов направлено на восстановление — активацию функции ионного канала, образованного мутантным белком CFTR (мутации III–IV классов). К потенциаторам относится генистеин (VX-770) [32, 40, 41].

2. *Препараты для первого класса мутаций*. Вещества, способствующие «прочтыванию» стоп-кодонов в CFTR-mRNA и предотвращению преждевременной терминации синтеза молекулы белка. Исследуется молекула РТС124 (аталурен) [32].

3. *Препараты для II класса мутаций и наиболее часто встречающейся мутации F508del*. Ивакафтор, лумакафтор, тезакафтор, элексакафтор.

4. *Препараты для «мягких» мутаций*. Потенциаторы хлорных каналов [32].

5. *Препараты, работающие при всех классах мутаций*. Активаторы альтернативных хлорных каналов: кальций-зависимый и P2Y-рецептор, аниофоры [32].

6. *Персонализированная терапия для больных муковисцидозом с очень редкими мутациями*. Благодаря современным методам молекулярной диагностики муковисцидоза выявляется большое число ранее неизвестных и редких мутаций. Пациенты с чрезвычайно редкими мутациями гена CFTR никогда не смогут получить доступ к таргетному лечению [30]. В связи с этим Европейским сообществом создана медицинская информационная технология лечения муковисцидоза. В основе её лечения лежит следующий подход. Стволовые клетки из кишечника пациентов будут выращены в «мини-кишке» (органоидах) с помощью технологий Hubrecht Organoid Technology. Органоиды будут использовать для подбора препаратов пациентам с муковисцидозом в лабораториях Нидерландов (Утрехт), Бельгии (Левен) и Португалии (Лиссабон) [32, 43].

7. В настоящее время разрабатывают *методы генной терапии*, например средство доставки гена 4DMT: 4D-710 — адаптированный вектор аденоассоциированного вируса (AAV), терапия с помощью РНК-технологий² [32].

² РНК — рибонуклеиновая кислота.

Применение современной ДНК-диагностики у пациентов с муковисцидозом обеспечивает возможность создания эффективной патогенетической терапии для каждой группы больных, в том числе с редкими мутациями [30]. По этой причине полное определение спектра мутаций в гене CFTR и расширение возможностей ДНК-диагностики необходимы для оптимизации медико-генетической помощи населению и внедрения новых лекарственных средств в терапию больных муковисцидозом [30].

Заключение

Таким образом, в настоящее время происходит прогресс в понимании клинических и генетических аспектов муковисцидоза, однако всё ещё остаётся множество нерешённых вопросов, например проблемы реализации ранней диагностики муковисцидоза, организации ДНК-диагностики и прогнозирования рождения детей, больных муковисцидозом. Разработка алгоритмов диагностики и лечения заболевания с учётом спектра и частоты мутаций в гене CFTR в регионах России позволит улучшить качество медико-генетической помощи отягощённым семьям.

Участие авторов. Г.Р.А. — сбор и обработка материалов, анализ данных, написание текста, обзор литературы; И.Р.М. — концепция и дизайн исследования, диагностические исследования, написание текста, участие в анализе публикаций; Р.И.Х. — составление плана статьи, анализ данных, диагностические исследования, написание текста.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

- Zvereff Val V, Faruki Hawazin, Edwards Marcia, Friedman Kenneth J. Cystic fibrosis carrier screening in a North American population. *Genet Med*. 2014;7:539–546. DOI: 10.1038/gim.2013.188.
- Капранов Н.И. Муковисцидоз. Современное состояние проблемы. *Пульмонология*. 2006(приложение):5–11. [Kapranov NI. Cystic fibrosis. The current state of the problem. *Pul'monologiya*. 2006(suppl):5–11. (In Russ.)]
- Воронкова А.Ю., Амелина Е.Л., Каширская Н.Ю., Кондратьева Е.И. *Регистр больных муковисцидозом в Российской Федерации. 2019 год*. М.: Медпрактика-М; 2021. 68 с. [Voronkova AYU, Amelina EL, Kashirskaya NYu, Kondrat'eva EI. *Registr bol'nykh mukovistsidom v Rossiyskoy Federatsii. 2019 god. (Russian Federation cystic fibrosis patients Register. 2019 year.)* Moscow: Medpraktika-M; 2021. 68 p. (In Russ.)]

- Baatallah N, Bitam S, Martin N, Serval N, Costes B, Mekki C, Chevalier B, Pranke I, Simonin J, Girodon E, Hoffmann B, Mornon JP, Callebaut I, Sermet-Gaudelus I, Fanen P, Edelman A, Hinzpeter A. Cis variants identified in F508del complex alleles modulate CFTR channel rescue by small molecules. *Hum Mutat*. 2018;39(4):506–514. DOI: 10.1002/humu.23389.

- Southern KW, Patel S, Sinha IP, Nevitt SJ. Correctors (specific therapies for class II CFTR mutations) for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;8(8):CD010966. DOI: 10.1002/14651858.CD010966.pub2.

- Hong-Xia Wu, Min Zhu, Xiao-Feng Xiong, Jia Wei, Kai-Quan Zhuo, De-Yun Cheng. Efficacy and safety of CFTR corrector and potentiator combination therapy in patients with cystic fibrosis for the F508del-CFTR homozygous mutation: A systematic review and meta-analysis. *Adv Ther*. 2019;36(2):451–461. DOI: 10.1007/s12325-018-0860-4.

- Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW, Marigowda G, Xiaohong H, Cipolli M, Colombo C, Davies JC, De Boeck K, Flume PA, Konstan MW, McColley SA, McCoy K, McKone EF, Munck A, Ratjen F, Rowe SM, Waltz D, Boyle MP, TRAFFIC Study Group; TRANSPORT Study Group. Lumacaftor-ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med*. 2015;373(3):220–231. DOI: 10.1056/NEJMoa1409547.

- James Littlewood OBE. *The history of cystic fibrosis by Dr. James Littlewood O.B.E.* 2018. <http://www.cfmedicineline.com/history> (access date: 20.02.2018).

- Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathological study. *Am J Dis Child*. 1938;56(2):344–399. DOI: 10.1001/archpedi.1938.01980140114013.

- Hunter MJ, Treharne KJ, Winter AK, Cassidy DM, Land S, Mehta A. Expression of wild-type CFTR suppresses NF-κB-Driven inflammatory signaling. *PLoS ONE*. 2010;5(7):e11598. DOI: 10.1371/journal.pone.0011598.

- Stollar F, Adde FV, Cunha MT, Leone C, Rodrigues JC. Shwachman–Kulczycki score still useful to monitor cystic fibrosis severity. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(6):979–983. DOI: 10.1590/s1807-59322011000600010.

- Hoiby N, Flensburg EW, Beck B, Friis B, Jacobsen SV, Jacobsen L. Pseudomonas Aeruginosa infection in cystic fibrosis. Diagnostic and prognostic significance of Pseudomonas Aeruginosa precipitins determined by means of crossed immunoelectrophoresis. *Scand J Respir Dis*. 1977;58(2):65-79. PMID: 404701.

- Ramsey BW, Pepe MS, Quan JM, Otto KL, Montgomery AB, Williams-Warren J, Vasiljev KM, Borowitz D, Bowman CM, Marshall BC, Marshall S, Smith AL. Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Inhaled Tobramycin Study Group. *N Engl J Med*. 1999;340(1):23–30. DOI: 10.1056/NEJM199901073400104.

- Matthews LW, Doershuk CF, Wise M, Eddy G, Nudelman H, Spector S. A therapeutic regimen for patients with cystic fibrosis. *J Pediatr*. 1964;65:558–575. DOI: 10.1016/s0022-3476(64)80290-0.

- Kraemer R, Rudeberg A, Hadorn B, Rossi E. Relative underweight in cystic fibrosis and its prognostic value. *Acta Paediatr Scand*. 1978;67(1):33–37. DOI: 10.1111/j.1651-2227.1978.tb16273.x.

- Pearson H. Human genetics: One gene, twenty years. *Nature*. 2009;460(7252):164–169. DOI: 10.1038/460164a.

- Голубцова О.И., Красовский С.А., Павлов П.И., Поляков А.В., Степанова А.А., Усачёва М.В. Особенности муковисцидоза у пациентов, жителей Чувашской Республики. *Пульмонология*. 2013;(3):80–88. [Go-

Iubtsova OI, Krasovsky SA, Pavlov PI, Polyakov AV, Stepanova AA, Usacheva MV. Features of cystic fibrosis in the Chuvash Republic. *Pulmonologiya*. 2013;(3):80–88. (In Russ.) DOI: 10.18093/0869-0189-2013-0-3-80-88.

18. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. *Муковисцидоз*. М.: Медпрактика-М; 2014. 672 с. [Kapranov NI, Kashirskaya NYu. *Mukovistsidoz. (Cystic fibrosis.)* Moscow: Medpraktika-M; 2014. 672 p. (In Russ.)]

19. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Ашерова И.К., Кондратьева Е.И., Шерман В.Д. Исторические и современные аспекты муковисцидоза в России. *Педиатрическая фармакология*. 2013;10(6):53–60. [Kapranov NI, Kashirskaya NYu, Asherova IK, Kondratyeva EI, Sherman VD. Historical and modern aspects of cystic fibrosis in Russia. *Pediatric pharmacology*. 2013;10(6):53–60. (In Russ.)] DOI: 10.15690/pf.v10i6.896.

20. Кондратьева Е.И., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. *Национальный консенсус «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия»*. М.: Боргес; 2016. 205 с. [Kondrat'eva EI, Kashirskaya NYu, Kapranov NI. *Natsional'nyu konsensus «Mukovistsidoz: opredelenie, diagnosticheskie kriterii, terapiya»*. (National consensus “Cystic fibrosis: definition, diagnostic criteria, therapy”). Moscow: Borges; 2016. 205 p. (In Russ.)]

21. *Кистозный фиброз (муковисцидоз)*. Клинические рекомендации. 2021. rekomendatsii-kistozyj-fibrozmukovistsidoz-2020.html (дата обращения: 13.10.2021). [Kistozyj fibroz (mukovistsidoz). *Klinicheskie rekomendatsii*. 2021. (Cystic fibrosis. Clinical guidelines. 2021.) <https://mukoviscidoz.org/klinicheskie-rekomendatsii-kistozyj-fibrozmukovistsidoz-2020.html> (access date: 13.10.2021). (In Russ.)]

22. Fajac I, Wainwright CE. New treatments targeting the basic defects in cystic fibrosis. *Presse Med*. 2017;46(6 Pt 2):e165–e175. DOI: 10.1016/j.lpm.2017.01.024.

23. Кондратьева Е.И., Амелина Е.Л., Чернуха М.Ю., Шерман В.Д., Красовский С.А., Каширская Н.Ю., Симонова О.И., Авдеев С.Н., Намазова-Баранова Л.С., Гембицкая Т.Е., Куцев С.И. Обзор клинических рекомендаций «Кистозный фиброз (муковисцидоз)» 2020. *Пульмонология*. 2021;31(2):135–146. [Kondratyeva EI, Amelina EL, Chernukha MYu, Sherman VD, Krasovskiy SA, Kashirskaya NYu, Simonova OI, Avdeev SN, Namazova-Baranova LS, Gembitskaya TE, Kutsev SI. Review of clinical guidelines “Cystic fibrosis”, 2020. *Pulmonologiya*. 2021;31(2):135–146. (In Russ.)] DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-2-135-146.

24. Crossley JR, Elliott RB, Smith PA. Dried blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn. *Lancet*. 1979;313(8114):472–474. DOI: 10.1016/S0140-6736(79)90825-0.

25. Castellani C, Southern KW, Brownlee K, Dankert Roelse J, Duff A, Farrell M, Mehta A, Munck A, Pollitt R, Sermet-Gaudelus I, Wilcken B, Ballmann M, Corbetta C, de Monestrol I, Farrell P, Feilcke M, Férec C, Gartner S, Gaskin K, Hammermann J, Kashirskaya N, Loeber G, Macek MJr, Mehta A, Reiman A, Rizzotti P, Sammon A, Sands D, Smyth A, Sommerburg O, Torresani T, Travert G, Vernooij A, Elborn S. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibros*. 2009;8(3):153–173. DOI: 10.1016/j.jcf.2009.01.004.

26. Толстова В.Д., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Массовый скрининг новорождённых на муковисцидоз в России. *Фарматека*. 2008;(1):38–44. [Tolstova VD, Kashirskaya NYu, Kapranov NI. Mass screening of newborns for cystic fibrosis in Russia. *Pharmateka*. 2008;(1):38–44. (In Russ.)]

27. Cheillan D, Vercherat M, Chevalier-Porst F, Charcosset M, Rolland MO, Dorche C. False-positive results in neonatal screening for cystic fibrosis based on a three-stage protocol (IRT/DNA/IRT): should we adjust IRT cut-off to ethnic origin? *J Inherit Metab Disease*. 2005;28:813–818. DOI: 10.1007/s10545-005-0067-0.

28. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. *Муковисцидоз. Современные достижения и актуальные проблемы*. Методические рекомендации. Издание 3-е, переработанное и дополненное. М.: ООО «4ТЕ Арт»; 2008. 124 с. [Kapranov NI, Kashirskaya NYu. *Mukovistsidoz. Sovremennye dostizheniya i aktual'nye problemy*. Metodicheskie rekomendatsii. Izdanie 3-e, pererabotannoe i dopolnennoe. (Cystic fibrosis. Modern achievements and current problems. Methodological recommendations. 3rd edition, revised and expanded.) M.: LLC “4TE Art”; 2008. 124 p. (In Russ.)]

29. Giusti R. New York State Cystic Fibrosis Newborn Screening Consortium. Elevated IRT levels in African — American infants: implications for newborn screening in an ethnically diverse population. *Pediatr Pulmonol*. 2008;43:638–641. DOI: 10.1002/ppul.20824.

30. Амелина Е.Л., Ефремова А.С., Мельяновская Ю.Л., Булатенко Н.В., Бухарова Т.Б., Каширская Н.Ю., Красовский С.А., Гольдштейн Д.В. Использование функциональных тестов для оценки остаточной активности канала CFTR и индивидуального подбора эффективных CFTR-модуляторов для лечения пациентов с муковисцидозом с «мягким» и «тяжёлым» генетическими вариантами. *Пульмонология*. 2021;31(2):167–177. [Amelina EL, Efremova AS, Melyanovskaya YuL, Bulatenko NV, Bukharova TB, Kashirskaya NYu, Krasovskiy SA, Goldshtein DV. Functional tests for assessment of residual CFTR channel activity and personalized selection of efficacious CFTR-modulators for cystic fibrosis patients with “mild” and “severe”: genetic variants. *Pulmonologiya*. 2021;31(2):167–177. (In Russ.)] DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-2-167-177.

31. Ефремова А.С., Мельяновская Ю.Л., Булатенко Н.В., Одинаева Н.Д., Орлов А.В., Пашкевич А.А., Адян Т.А., Кондратьева Е.И. Описание редких аллелей гена CFTR при муковисцидозе с помощью функциональных тестов и форсколинового теста на ректальных органоидах. *Пульмонология*. 2021;31(2):178–188. [Efremova AS, Melyanovskaya YuL, Bulatenko NV, Oдинаева ND, Orlov AV, Pashkevich AA, Adyan TA, Kondratyeva EI. Description of rare alleles of the CFTR gene in cystic fibrosis using functional tests and forskolin-induced swelling assay in rectal organoids. *Pulmonologiya*. 2021;31(2):178–188. (In Russ.)] DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-2-178-188.

32. Куцев С.И., Ижевская В.Л., Кондратьева Е.И. Таргетная терапия при муковисцидозе. *Пульмонология*. 2021;31(2):226–236. [Kutsev SI, Izhevskaya VL, Kondratyeva EI. Targeted therapy for cystic fibrosis. *Pulmonologiya*. 2021;31(2):226–236. (In Russ.)] DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-2-226-236.

33. Jungas T, Motta I, Duffieux F, Fanen P, Stoven V, Ojeius DM. Glutathione levels and BAX activation during apoptosis due to oxidative stress in cells expressing wild-type and mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *J Biol Chem*. 2002;277(31):27912–27918. DOI: 10.1074/jbc.M110288200.

34. Kogan I, Ramjeesingh M, Li C, Kidd JF, Wang Y, Leslie EM, Cole SPC, Bear CE. CFTR directly mediates nucleotide-regulated glutathione flux. *EMBO J*. 2003;22(9):1981–1989. DOI: 10.1093/emboj/cdg194.

35. Castellani C, Cuppens H, Macek MJr, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros.* 2008;7(3):179–196. DOI: 10.1016/j.jcf.2008.03.009.
36. Petrova NV, Kashirskaya NY, Krasovskiy SA, Amelina EL, Kondratyeva EI, Marakhonov AV, Vasilyeva TA, Voronkova AY, Sherman VD, Ginter EK, Kutsev SI, Zinchenko RA. Clinical presentation of the c.3844T>C (p.Trp1282Arg, W1282R) variant in Russian cystic fibrosis patients. *Genes.* 2020;11(10):1137. DOI: 10.3390/genes11101137.
37. Castellani C, Cuppens H, Macek MJr, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, Tullis E, Assael BM, Bombieri C, Brown A, Casals T, Claustres M, Cutting GR, Dequeker E, Dodgel J, Doullm I, Farrell P, Ferec C, Girodon E, Johannesson M, Kerem B, Knowles M, Munck A, Pignatti PF, Radojkovic D, Rizzotti P, Schwarz M, Stuhmann M, Tzetis M, Zielenski J, Elborn JS. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros.* 2008;7(3):179–196. DOI: 10.1016/j.jcf.2008.03.009.
38. Brennan M-L, Schrijver I. A review of associated phenotypes, use of molecular diagnostic approaches, genetic characteristics, progress, and dilemmas. *J Mol Diagn.* 2016;18(1):3–14. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2015.06.010.
39. Смирнихина С.А., Лавров А.В. Генная терапия наследственных заболеваний с помощью технологии CRISPR/Cas9 *in vivo*. *Медицинская генетика.* 2016;15(9):3–11. [Smirnikhina SA, Lavrov AV. Gene therapy of hereditary diseases by CRISPR/Cas9 technology *in vivo*. *Meditinskaya genetika.* 2016;15(9):3–11. (In Russ.)]
40. Van Goor F, Hadida S, Grootenhuys PD, Burton B, Cao D, Neuberger T, Turnbull A, Singh A, Joubran J, Hazlewood A, Zhou J, McCartney J, Arumugam V, Decker C, Yang J, Young C, Olson ER, Wine JJ, Frizzell RA, Ashlock M, Negulescu P. Rescue of CF airway epithelial cell function *in vitro* by a CFTR potentiator, VX-770. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009;106(44):18825–18830. DOI: 10.1073/pnas.0904709106.
41. Taylor-Cousar JL, Munck A, McKone EF, van der Ent CK, Moeller A, Simard C, Wang LT, Ingenito EP, McKee C, Lu Y, Lekstrom-Himes J, Elborn JS. Tezacaftor-Ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del. *N Engl J Med.* 2017;377(21):2013–2023. DOI: 10.1056/NEJMoa1709846.
42. Flume PA, Liou TG, Borowitz DS, Li H, Yen K, Ordoñez CL, Geller DE, VX 08-770-104 Study Group. Ivacaftor in subjects with cystic fibrosis who are homozygous for the F508del-CFTR mutation. *Chest.* 2012;142(3):718–724. DOI: 10.1378/chest.11-2672.
43. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL, the ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405–424. DOI: 10.1038/gim.2015.30.

Сведения об авторах

Аюпова Гузель Рамилевна, аспирант, каф. медицинской генетики и фундаментальной медицины, ИДПО Башкирского государственного медицинского университета; врач-педиатр, ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр», г. Уфа, Россия; guzel8319@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6175-9764>

Миннихметов Илдар Рамилевич, канд. биол. наук, доц., каф. медицинской генетики и фундаментальной медицины, ИДПО Башкирского государственного медицинского университета; директор, ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр», г. Уфа, Россия; minniakhmetov@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7045-8215>

Хусанова Рита Игоревна, докт. биол. наук, проф., каф. медицинской генетики и фундаментальной медицины, ИДПО Башкирского государственного медицинского университета; зам. директора по лабораторно-диагностической работе, ГБУЗ «Республиканский медико-генетический центр», г. Уфа, Россия; ritakh@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8643-850X>

Author details

Guzel R. Ayupova, Postgrad. Stud., Depart. of Medical Genetics and Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University; Pediatrician, State-Funded Institution of health care Republican Medical Genetics Center, Ufa, Russia; guzel8319@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6175-9764>

Ildar R. Minniakhmetov, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Depart. of Medical Genetics and Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University; Director, State-Funded Institution of health care Republican Medical Genetics Center, Ufa, Russia; minniakhmetov@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7045-8215>

Rita I. Khusainova, D. Sci. (Biol.), Prof., Depart. of Medical Genetics and Fundamental Medicine, Bashkir State Medical University; Deputy Director, State-Funded Institution of health care Republican Medical Genetics Center, Ufa, Russia; ritakh@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8643-850X>