

Изучение функциональной активности канала CFTR у пациента с генотипом [L467F;F508del]/W1310X

М.Г.Краснова¹ ✉, Д.О.Мокроусова¹, А.С.Ефремова¹, Ю.Л.Мельяновская^{1,2}, В.Д.Шерман¹, Т.Б.Бухарова¹, Д.В.Гольдштейн¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации: 115478, Россия, Москва, ул. Москворечье, 1

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области»: 115093, Россия, Московская обл., Мытищи, ул. Коминтерна, 24А, стр. 1

Резюме

Важным фактором, оказывающим влияние на тяжесть муковисцидоза (МВ) и эффективность лечения, является наличие комплексных аллелей (КА) в гене *CFTR* ≥ 2 вариантов на одном аллеле. Влияние таких аллелей на проявления МВ изучено недостаточно. **Целью** работы явилось исследование влияния КА [L467F;F508del] на фенотипические проявления МВ и эффективность таргетной терапии на модели кишечных органоидов (КО) у пациента с генотипом [L467F;F508del]/W1310X. **Материалы и методы.** На примере истории болезни пациентки с генотипом [L467F;F508del]/W1310X представлены методы определения разницы кишечных потенциалов (ОРКП), КО, форсколиновый тест. **Результаты.** У пациентки выявлено заболевание прогрессирующего характера с явной деградацией легочной функции. При использовании метода ОРКП показано отсутствие функции хлорного канала. По данным исследования на культуре КО, полученной из ткани кишечника, показана полная утрата функциональной активности хлорного канала. Кроме того, КА [L467F;F508del] оказался нечувствительным к действию всех протестированных CFTR-модуляторов. **Заключение.** КА [L467F;F508del], нечувствительный к действию ни одного из зарегистрированных таргетных препаратов, вызывает полную утрату функционального белка CFTR.

Ключевые слова: CFTR, муковисцидоз, комплексный аллель, определение разности кишечных потенциалов, кишечные органоиды, форсколиновый тест, таргетная терапия.

Конфликт интересов. Конфликт интересов авторами не заявлен.

Финансирование. Работа выполнена за счет средств гранта Российского научного фонда № 22-15-00473 «Исследование влияния комплексных аллелей гена *CFTR* на функциональную активность хлорного канала для персонализированного подбора таргетной терапии при муковисцидозе».

Этическая экспертиза. При проведении исследования от всех пациентов получено разрешение и подписано добровольное информированное согласие. Исследование и форма информированного согласия одобрены 15.10.18 Комитетом по этике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (председатель Комитета по этике — профессор Л.Ф.Курило).

© Краснова М.Г. и соавт., 2024

Для цитирования: Краснова М.Г., Мокроусова Д.О., Ефремова А.С., Мельяновская Ю.Л., Шерман В.Д., Бухарова Т.Б., Гольдштейн Д.В. Изучение функциональной активности канала CFTR у пациента с генотипом [L467F;F508del]/W1310X. *Пульмонология*. 2024; 34 (2): 264–270. DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-2-264-270

Functional activity of the CFTR channel in a patient with the [L467F;F508del]/W1310X genotype

Maria G. Krasnova¹ ✉, Diana O. Mokrousova¹, Anna S. Efremova¹, Yulia L. Melyanovskaya^{1,2}, Victoria D. Sherman¹, Tatiana B. Bukharova¹, Dmitry V. Goldshtein¹

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre for Medical Genetics”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation: ul. Moskvorechye 1, Moscow, 115522, Russia

² State Budgetary Healthcare Institution of the Moscow region “Research Clinical Institute of Childhood”, Healthcare Ministry of Moscow Region: ul. Komintern 124A, build. 1, Moskovskaya obl., Mytishchi, 141009, Russia

Abstract

An important factor influencing the severity of cystic fibrosis (CF) and the effectiveness of treatment is the presence of complex alleles in the *CFTR* gene ≥ 2 variants in one allele. The influence of such alleles on the manifestations of CF has not been sufficiently studied. **The aim** of this study was to investigate the effect of the complex allele [L467F;F508del] on the phenotypic manifestations of CF and the efficacy of targeted therapy in an intestinal organoid (IO) model in a patient with the [L467F;F508del]/W1310X genotype. **Methods.** Methods for determining the difference in intestinal potentials (IDP), the KO method, and the forskolin test are presented using the medical history of a patient with the [L467F;F508del]/W1310X genotype as an example. **Results.** The patient was diagnosed with progressive disease with obvious deterioration of pulmonary function. The ORKP method showed the absence of chlorine channel function. An assay with a KO culture from intestinal tissue showed a complete loss of functional activity of the chloride channel. In addition, the complex allele [L467F;F508del] is not sensitive to the effect of all tested CFTR modulators. **Conclusion.** The complex allele [L467F;F508del] causes a complete loss of functional CFTR protein and is not sensitive to the effect of any of the registered targeted drugs.

Key words: CFTR, cystic fibrosis, complex allele, intestinal current measurement, intestinal organoids, forskolin-induced swelling assay, targeted therapy.

Conflict of interests. No conflict of interest was declared by the authors.

Funding. The work was supported by the Russian Science Foundation grant No.22-15-00473 “Study of the influence of complex alleles of the *CFTR* gene on the functional activity of chloride channel for personalized selection of targeted therapy for cystic fibrosis”.

Ethical review. During the study, permission was obtained from all patients and voluntary informed consent was signed. The study and the informed consent form were approved on October 15, 2018 by the Ethics Committee of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre for Medical Genetics”, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (chairman of the Ethics Committee – Professor L.F.Kurilo).

© Krasnova M.G. et al., 2024

For citation: Krasnova M.G., Mokrousova D.O., Efremova A.S., Melyanovskaya Yu.L., Sherman V.D., Bukharova T.B., Goldshtein D.V. Functional activity of the CFTR channel in a patient with the [L467F;F508del]/W1310X genotype. *Pul'monologiya*. 2024; 34 (2): 264–270 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2024-34-2-264-270

Муковисцидоз (МВ) — моногенное аутосомно-рецессивное заболевание, которое характеризуется полиорганными проявлениями из-за недостаточного количества CFTR-белка на апикальной мембране эпителиальных клеток или его дисфункции. Патогенные нуклеотидные варианты гена *CFTR*, который кодирует одноименный белок CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*), приводят к развитию МВ [1].

Диагностика МВ и подбор эффективной терапии затруднены из-за большого разнообразия вариантов *CFTR*. На данный момент известно > 2 000 вариантов гена *CFTR*, 719 из них имеют доказанную патогенность [2].

Для патогенетической терапии МВ разработаны и одобрены Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (*Food and Drug Administration* — FDA) CFTR-модуляторы: потенциатор ивакафтор (VX-770) и корректоры лумакафтор (VX-809), тезакафтор (VX-661), элексакафтор (VX-445). Препараты назначаются на основании *CFTR*-генотипа, однако дополнительные варианты *in cis* могут снизить эффективность применяемой терапии. Установление диагноза также осложняется комплексными аллелями (КА) гена *CFTR*. КА возникают при наличии ≥ 2 нуклеотидных вариантов на одном и том же аллеле (в cis-положении). Среди российских пациентов наиболее распространен КА [L467F;F508del], его частота составляет 0,74 % всех пациентов с МВ, а среди гомозигот F508del — 8 % [3, 4].

Данный КА оказывает влияние на эффективность таргетной терапии. F508del-*CFTR* присутствует примерно у 90 % пациентов с МВ [5]. По данным исследования *Van Goor et al.* показано, что функциональная активность (ФА) канала F508del-CFTR восстанавливается при использовании корректора лумакафтора (VX-809) и потенциатора ивакафтора (VX-770), что делает данную комбинацию CFTR-модуляторов релевантной для применения в терапии пациентов с генотипом F508del/F508del [6]. Также восстановление ФА CFTR наблюдается при применении остальных комбинированных препаратов (тезакафтор / ивакафтор и элексакафтор / тезакафтор / ивакафтор). Однако в случае идентификации дополнительного варианта *in cis* эффективность таргетной терапии может снижаться. L467F в базе данных GnomAD описан как

вариант с неопределенной клинической значимостью. По данным исследования изучена ФА канала CFTR у пациента с генотипом [L467F;F508del]/W1310X. Вариант W1310X относится к I классу и приводит к полной утрате ФА белка CFTR. W1310X в гомозиготном состоянии приводит к «тяжелому» МВ [7].

Для подбора таргетной терапии у пациентов с МВ производится оценка ФА канала CFTR *in vitro* на кишечных органоидах (КО), полученных от пациента. ФА канала оценивается посредством форсколинового теста, который позволяет с высокой точностью персонализировано оценить эффективность CFTR-модуляторов [8]. Форсколиновый тест является биомаркером *in vitro*, при помощи которого количественно определяется CFTR-зависимый транспорт ионов хлора в люмен КО. Таким образом, КА усложняют классификацию нуклеотидных вариантов *CFTR* и нуждаются в дополнительных исследованиях для определения их патогенности или модулирующего эффекта в ответ на лечение CFTR-модуляторами.

Целью работы явилось исследование влияния КА [L467F;F508del] на фенотипические проявления МВ и эффективность таргетной терапии на модели КО у пациентки с генотипом [L467F;F508del]/W1310X.

Клиническое наблюдение

Обследована пациентка 2013 года рождения. Клинический диагноз МВ (E84.8), смешанная форма, тяжелое течение, генетический диагноз [L467F;F508del]/W1310X. Хронический гнойно-обструктивный бронхит. Дыхательная недостаточность 0-й степени. Хронический пансинусит. Хронический высев *Pseudomonas aeruginosa*. Хроническая панкреатическая недостаточность тяжелой степени. Цирроз печени (F4 по METAVIR). Синдром портальной гипертензии.

Из ректальных биоптатов кишечника пациентки изолировались крипты. Для этого осуществлялась инкубация с раствором 10 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) (*Thermo Fisher Scientific*, США), затем крипты погружались в матригель (*Corning*, США) и высевались в 24-луночные планшеты. После полимеризации матригеля добавлялась ростовая среда. Состав среды указан в работе [9]. Пересев КО осуществлялся 1 раз в 7 дней путем механического разрушения крупных почкующихся структур на мелкие фрагменты.

Для проведения форсколинового теста КО высевались в 96-луночные планшеты. Через 24 ч КО окрашивались *Calcein AM* (*Biotium*) и осуществлялась стимуляция форсколином в концентрациях 0,128 и 5 мкМ. Обработка про-

должалась в течение 60 мин. На определенных временных точках (каждые 10 мин в течение 1 ч) осуществлялась съемка зафиксированных полей с использованием автоматического сканера клеток *BioTek Lionheart FX Automated Microscope* (Agilent, США). Корректоры лумакафтор VX-809, тезакафтор VX-661 и элексакафтор VX-445 (3,5 мкМ) (*Selleckchem*, США) добавлялись в ростовую среду на этапе посева КО, а потенциатор ивакафтор VX-770 (3,5 мкМ) (*Selleckchem*, США) — одновременно с форсколином. Количественный анализ набухания КО проводился при помощи программы *ImageJ*.

Забор ректальных биоптатов проводился на оборудовании *Olympus Disposable EndoTherapy EndoJaw Biopsy forceps* (model #FB-23OU).

Метод определения разницы кишечных потенциалов (ОРКП) осуществлялся согласно европейским стандартным операционным процедурам V2.7_26.10.11 [10]. Работа проводилась на приборе VCC MC 8B421 *Physiologic Instrument* (США). Биопсийный материал, помещенный в специальный зажим P2407B с диафрагмой диаметром 1,2 мм, помещался в камеру. Камеры заполняются раствором буфера *Meyler*. Буфер подается в камеру с помощью циркуляционного насоса, подключенного к водяной бане с установленной температурой 37 °C и постоянным газовым составом 95 % O₂ : 5 % CO₂. Затем согласно протоколу добавляются стимуляторы и ингибиторы *Sigma-Aldrich*, (*Merck*, Германия) в следующей последовательности: амилорид (100 μМ), форсколин (10 μМ) / IBMX (100 μМ), генистеин (100 μМ), карбахол (100 μМ), DIDS (100 μМ), гистамин (100 μМ). После добавления каждого стимулятора измеряется показатель плотности тока короткого замыкания (ΔI_{sc}). Измерение проводится один раз.

Клиническая картина. Из анамнеза пациентки известно, что диагноз МВ установлен в первые месяцы жизни на основании положительного результата неонатального скрининга, подтвержденного результатом потовой пробы (проводимость эквивалентна 98 ммоль / л NaCl при норме < 50 ммоль / л), характерной клинической картины (кишечный синдром с рождения, отставание в физическом развитии, низкий уровень фекальной эластазы (< 50 мкг / г при норме > 200 мкг / г), результата генетического исследования (на 1-м этапе обнаружен вариант F508del в гетерозиготном

состоянии). В 2016 г. по результатам секвенирования нового поколения (NGS) установлен генотип [L467F;F508del]/W1310X. Течение заболевания тяжелое, обострения бронхолегочного процесса 2 раза в год, течение хронической инфекции *P. aeruginosa*. В 2022 г. диагностирован цирроз печени, в 2023 г. — синдром портальной гипертензии. Отмечается отставание в физическом развитии (индекс массы тела — 15,6 кг / м² (31-й перцентиль; -0,49 SD)).

Показатели спирометрии — в пределах нормы (объем форсированного выдоха за 1-ю секунду — 94,4 %_{долж.}). Несмотря на присутствие в генотипе КА и варианта, относящегося к I классу нарушений, пациентке в 2023 г. назначена таргетная терапия CFTR-модуляторами ивакафтор + тезакафтор + элексакафтор. На фоне проводимой терапии в течение 9 мес. темпы физического развития — без динамики, сохранялись признаки синусита, отмечались обострения хронического бронхита, при которых потребовались госпитализации. Показатель потового теста колебался от 89 до 116 ммоль / л (отсутствие положительной динамики). По данным рентгенографии — признаки бронхоэктазов, фиброателектаза. Показатели спирометрии оставались в пределах нормальных значений.

Определение разности кишечных потенциалов

С целью оценки эффективности таргетной терапии через 9 мес. от ее старта проведено ОРКП. Плотность тока короткого замыкания в ответ на введение форсколина (хлорный CFTR-канал) составила 0 μА / см², показатели соответствуют «тяжелому» генотипу (рис. 1). Заключение: тест свидетельствует об отсутствии функции канала CFTR.

Проведение форсколинового теста на культуре кишечных органоидов, несущих комплексный аллель [L467F;F508del]

При помощи форсколинового теста проведена оценка влияния CFTR-модуляторов на восстановление ФА белка CFTR. Получена культура КО от пациен-

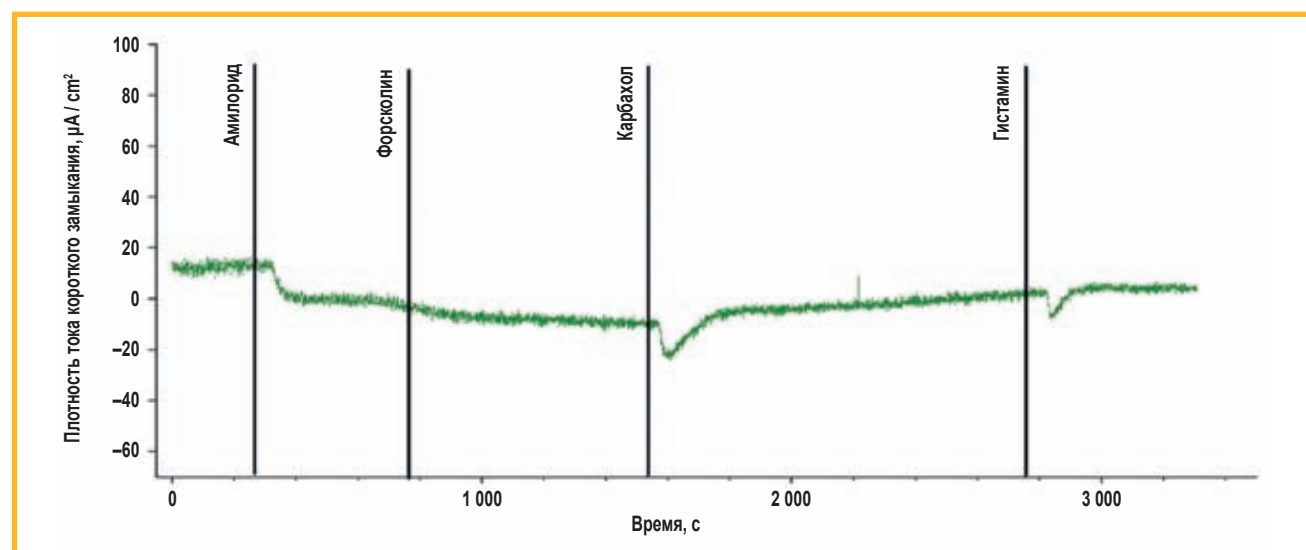


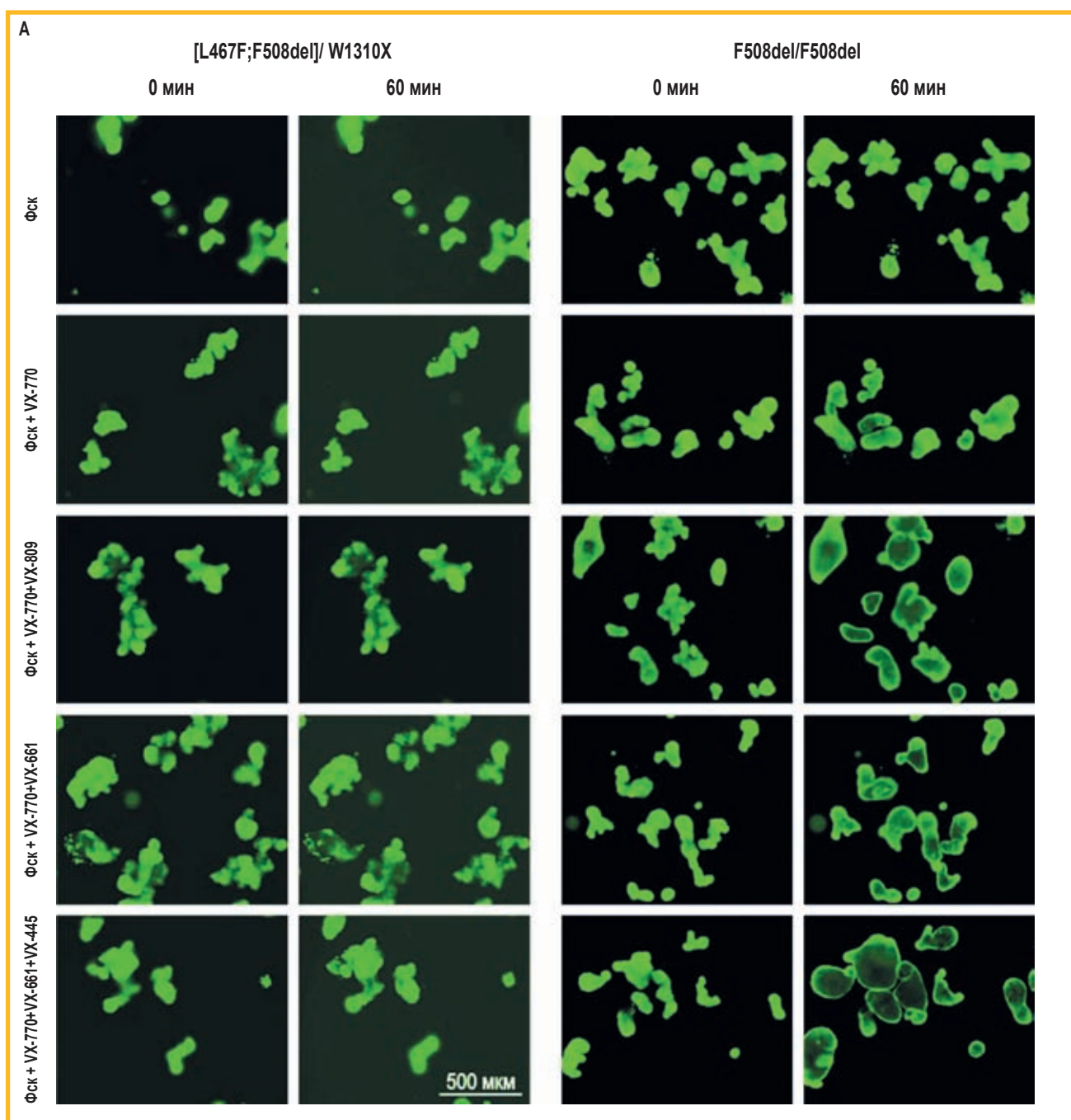
Рис. 1. Графический результат метода определения разности кишечных потенциалов у пациента с генотипом [L467F;F508del]/W1310X
Figure 1. Intestinal current measurement of a patient with [L467F;F508del]/W1310X genotype

тки с генотипом [L467F;F508del]/ W1310X. В данном случае наблюдается полная утрата ФА канала CFTR, поскольку КО не отвечают набуханием на стимуляцию форсколином. Потенциатор ивакафтор не влияет на активность канала CFTR. Отсутствие ответа также наблюдается при воздействии CFTR-модулятора лумакафтора и комбинированных таргетных препаратов, сочетающих ивакафтор с лумакафтором (VX-770+VX-809) или с тезакафтором (VX-770+VX-661) (рис. 2). При воздействии тройного комбинированного препарата ивакафтор + тезакафтор + элексакафтор (VX-770+VX-661+VX-445) наблюдается слабое набухание КО, количественные значения составляют $120,97 \pm 3,07 \%$ (рис. 2В). Однако полученные результаты не могут стать основанием для назна-

чения таргетной терапии пациентам с генотипом [L467F;F508del] / I класс.

Обсуждение

Вариант W1310X, находящийся *in trans*, относится к нарушениям I класса и приводит к полной утрате ФА канала CFTR [7]. При наличии у пациента генотипа [L467F;F508del]/W1310X также наблюдается отсутствие ФА канала CFTR, согласно результатам форсколинового теста на КО и ОРКП, что свидетельствует о принадлежности КА [L467F;F508del] к «тяжелым» вариантам I или II класса. При обработке КО таргетными препаратами их площадь не изменяется, в отличие от контрольной культуры F508del/F508del,



Начало рис. 2. Окончание см. на стр. 268

Окончание рис. 2. Начало см. на стр. 267

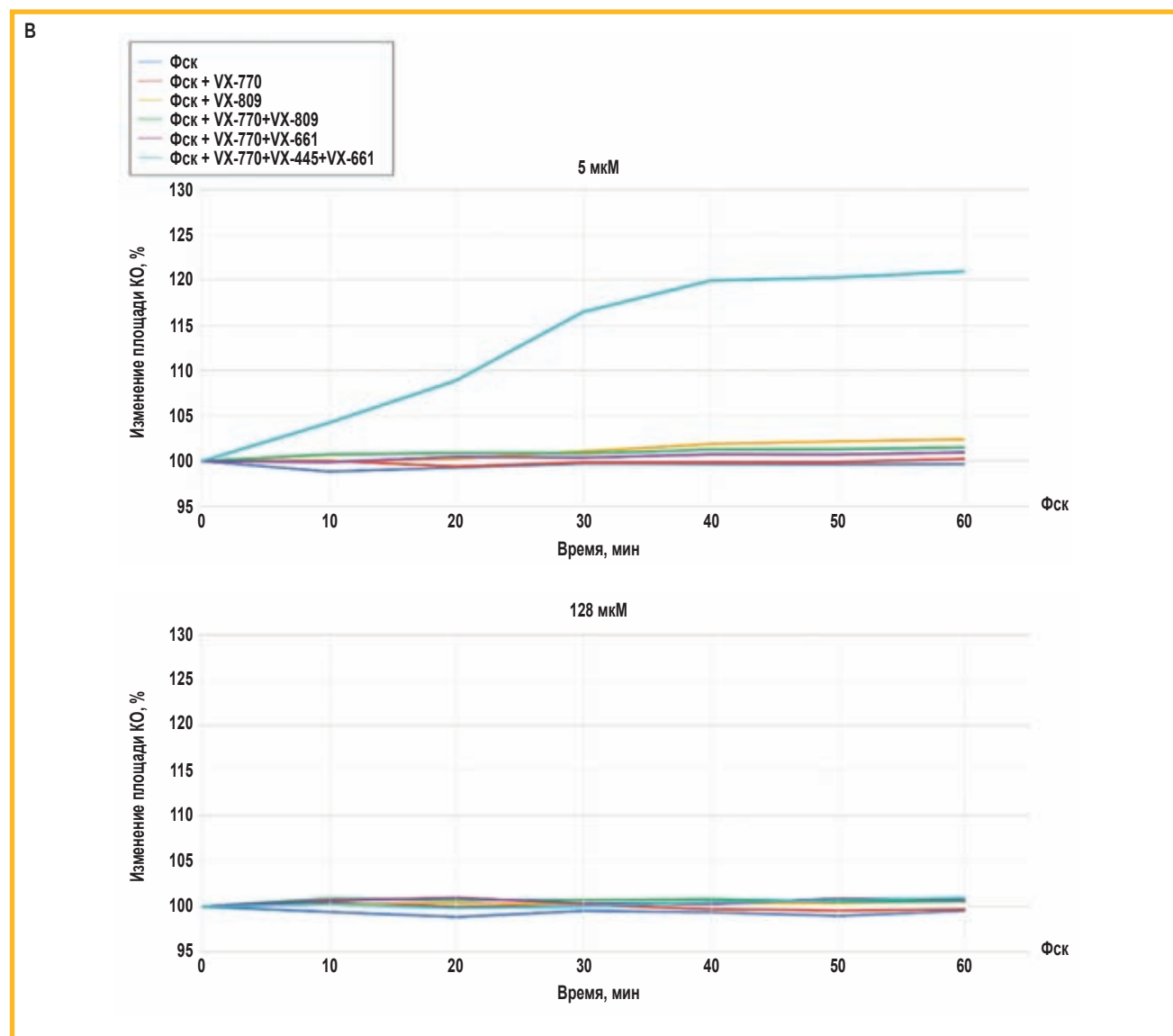


Рис. 2. А – характерные изображения кишечных органоидов у пациентов с генотипом [L467F;F508del]/W1310X до воздействия форсколина (5 мкМ) и таргетных препаратов (все – 3,5 мкМ) и после завершения обработки. Кишечные органоиды у пациентов с генотипом F508del/F508del (справа) – контроль. Окраска – Calcein (0,84 мкМ, 1 ч), объектив $\times 5$, масштабная шкала – 500 мкм; В – график изменения площади кишечных органоидов при воздействии форсколина (5 и 0,128 мкМ) и таргетных препаратов в течение 1 ч

Примечание: КО – кишечные органоиды; ФСК – форсколин.

Figure 2. A, representative images of intestinal organoids of patients with the [L467F;F508del]/W1310X genotype before exposure to forskolin (5 μ M) and targeted therapies (all 3.5 μ M) and after the treatment. Intestinal organoids from patients with the F508del/F508del genotype (right) served as control. Staining – Calcein (0.84 μ M, 1 h), objective $\times 5$, scale bar – 500 μ m; B, graph of changes in the area of intestinal organoids when exposed to forskolin (5 μ M and 0.128 μ M) and targeted therapies for 1 hour

что свидетельствует о том, что вариант L467F в КА [L467F;F508del] снижает эффективность таргетной терапии по сравнению с вариантом F508del.

Для данного варианта *E.Sondo et. al.* проведена оценка экспрессии *CFTR*^[L467F;F508del] *in vitro*. Клетки CFBE41o⁺ и FRT, трансдуцированные *CFTR*^[L467F;F508del], продуцируют преимущественно незрелую форму белка. Обработка клеток препаратом тезакафтор + элексафтор не приводила к существенному изменению уровня зрелого белка [11].

Таким образом, КА гена *CFTR* являются относительно распространенным явлением, которое необходимо учитывать при установлении генетического диагноза и назначении таргетной терапии. В случае

неканонического ответа пациента на рекомендованную терапию необходимо проводить поиск дополнительных вариантов в цис-положении.

Заключение

Данные, полученные методом ОРКП и на модели КО, несущих генотип [L467F; F508del]/W1310X, позволяют классифицировать данный генотип как «тяжелый», приводящий к полной утрате ФА белка CFTR и отсутствию его эффективного восстановления при воздействии не только ивакафтором, но и другими, более эффективными комбинациями CFTR-модуляторов. Отсутствие положительного влияния тройной тар-

гетной терапии подтверждается также результатами потового теста и клинического наблюдения.

Литература

1. Dekkers J.F., Berkens G., Kruisselbrink E. et al. Characterizing responses to CFTR-modulating drugs using rectal organoids derived from subjects with cystic fibrosis. *Sci. Transl. Med.* 2016; 8 (344): 344ra84. DOI: 10.1126/scitranslmed.aad8278.
2. Clinical and functional translation of CFTR. Available at: <https://cfir2.org/> [Accessed: January 29, 2024].
3. Красовский С.А., Старинова М.А., Воронкова А.Ю. и др., ред. Регистр пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. 2021 год. СПб: Благотворительный фонд «Острова»; 2023. Доступно на: https://mukoviscidoz.org/doc/registr/registr_systicfibrosis_brochure_19_10.pdf
4. Kondratyeva E., Efremova A., Melyanovskaya Y. et al. Evaluation of the complex p.[Leu467Phe;Phe508del] CFTR allele in the intestinal organoids model: implications for therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23 (18): 10377. DOI: 10.3390/ijms231810377.
5. Boeck K.De, Zolin A., Cuppens H. et al. The relative frequency of CFTR mutation classes in European patients with cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2014; 13 (4): 403–409. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.12.003.
6. Van Goor F., Yu H., Burton B., Hoffman B.J. Effect of ivacaftor on CFTR forms with missense mutations associated with defects in protein processing or function. *J. Cyst. Fibros.* 2014; 13 (1): 29–36. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.06.008.
7. Гембицкая Т.Е., Ивашенко Т.Э., Черменский А.Г., Насыхова Ю.А. Фенотипические особенности и генетическая неоднородность больных при поздней манифестации и неклассическом течении муковисцидоза. *Пульмонология.* 2014; (1): 66–70. DOI: 10.18093/0869-0189-2014-0-1-66-70.
8. Ramalho A.S., Fürstová E., Vonk A.M. et al. Correction of CFTR function in intestinal organoids to guide treatment of cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2021; 57 (1): 190242. DOI: 10.1183/13993003.02426-2019.
9. Boj S.F., Vonk A.M., Statia M. et al. Forskolin-induced swelling in intestinal organoids: An in vitro assay for assessing drug response in cystic fibrosis patients. *J. Vis. Exp.* 2017; (120): 55159. DOI: 10.3791/55159.
10. Derichs N., Sanz J., Von Kanel T. et al. Intestinal current measurement for diagnostic classification of patients with questionable cystic fibrosis: validation and reference data. *Thorax.* 2010; 65 (7): 594–599. DOI: 10.1136/thx.2009.125088.
11. Sondo E., Cresta F., Pastorino C. et al. The L467F-F508del complex allele hampers pharmacological rescue of mutant CFTR by elxacaftor/tezacaftor/ivacaftor in cystic fibrosis patients: The value of the ex vivo nasal epithelial model to address non-responders to CFTR-modulating drugs. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23 (6): 3175. DOI: 10.3390/ijms23063175.

Поступила: 15.01.24
Принята к печати: 15.03.24

References

1. Dekkers J.F., Berkens G., Kruisselbrink E. et al. Characterizing responses to CFTR-modulating drugs using rectal organoids derived from subjects with cystic fibrosis. *Sci. Transl. Med.* 2016; 8 (344): 344ra84. DOI: 10.1126/scitranslmed.aad8278.
2. Clinical and functional translation of CFTR. Available at: <https://cfir2.org/> [Accessed: January 29, 2024].
3. Krasovskiy S.A., Starinova M.A., Voronkova A.Yu. et al., eds. [Register of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation. 2021]. St. Petersburg: Blagotvoritel'nyy fond "Ostrova"; 2023. Available at: https://mukoviscidoz.org/doc/registr/registr_systicfibrosis_brochure_19_10.pdf (in Russian).
4. Kondratyeva E., Efremova A., Melyanovskaya Y. et al. Evaluation of the complex p.[Leu467Phe;Phe508del] CFTR allele in the intestinal organoids model: implications for therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23 (18): 10377. DOI: 10.3390/ijms231810377.
5. Boeck K.De, Zolin A., Cuppens H. et al. The relative frequency of CFTR mutation classes in European patients with cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 2014; 13 (4): 403–409. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.12.003.
6. Van Goor F., Yu H., Burton B., Hoffman B.J. Effect of ivacaftor on CFTR forms with missense mutations associated with defects in protein processing or function. *J. Cyst. Fibros.* 2014; 13 (1): 29–36. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.06.008.
7. Gembitskaya T.E., Ivashchenko T.E., Chermenskiy A.G., Nasykhova Yu.A. [Phenotypic characteristics and genetic heterogeneity in patients with late-onset unclassical cystic fibrosis]. *Pul'monologiya.* 2014; (1): 66–70. DOI: 10.18093/0869-0189-2014-0-1-66-70 (in Russian).
8. Ramalho A.S., Fürstová E., Vonk A.M. et al. Correction of CFTR function in intestinal organoids to guide treatment of cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2021; 57 (1): 190242. DOI: 10.1183/13993003.02426-2019.
9. Boj S.F., Vonk A.M., Statia M. et al. Forskolin-induced swelling in intestinal organoids: An in vitro assay for assessing drug response in cystic fibrosis patients. *J. Vis. Exp.* 2017; (120): 55159. DOI: 10.3791/55159.
10. Derichs N., Sanz J., Von Kanel T. et al. Intestinal current measurement for diagnostic classification of patients with questionable cystic fibrosis: validation and reference data. *Thorax.* 2010; 65 (7): 594–599. DOI: 10.1136/thx.2009.125088.
11. Sondo E., Cresta F., Pastorino C. et al. The L467F-F508del complex allele hampers pharmacological rescue of mutant CFTR by elxacaftor/tezacaftor/ivacaftor in cystic fibrosis patients: The value of the ex vivo nasal epithelial model to address non-responders to CFTR-modulating drugs. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23 (6): 3175. DOI: 10.3390/ijms23063175.

Received: January 15, 2024
Accepted for publication: March 15, 2024

Информация об авторах / Authors Information

Краснова Мария Геннадьевна — аспирант, младший научный сотрудник лаборатории генетики стволовых клеток Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 324-20-24; e-mail: krasnova.m.g.0605@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2195-3025>)
Maria G. Krasnova, Postgraduate Student, Junior Researcher, Stem Cell Genetics Laboratory, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre for Medical Genetics", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: krasnova.m.g.0605@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2195-3025>)

Мокроусова Диана Олеговна — лаборант-исследователь лаборатории генетики стволовых клеток Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 324-20-24; e-mail: diana-mok2000@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2066-0009>)
Diana O. Mokrousova, Laboratory Researcher, Stem Cell Genetics Laboratory, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre for Medical Genetics", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Feder-

ation; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: diana-mok2000@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2066-0009>)

Ефремова Анна Сергеевна — к. б. н., ведущий научный сотрудник, лаборатории генетики стволовых клеток Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 324-20-24; e-mail: anna.efremova.83@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5035-6396>)
Anna S. Efremova, Candidate of Biology, Leading Researcher, Stem Cell Genetics Laboratory, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre for Medical Genetics", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: anna.efremova.83@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5035-6396>)

Мельникова Юлия Леонидовна — научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Государственного бюджетного учреждения здра-

воохранения Московской области «Научно-исследовательский клинический институт детства Министерства здравоохранения Московской области»; тел.: (495) 324-20-24; e-mail: melcat@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8814-5532>)

Yuliya L. Melyanovskaya, Researcher, Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre for Medical Genetics", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; Researcher, Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis, State Budgetary Healthcare Institution of the Moscow region "Research Clinical Institute of Childhood", Healthcare Ministry of Moscow Region; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: melcat@mail.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8814-5532>)

Шерман Виктория Давидовна — к. м. н., ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела муковисцидоза Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 324-20-24; e-mail: tovika@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000000322061528>)

Viktoriya D. Sherman, Candidate of Medicine, Leading Researcher, Research and Clinical Division of Cystic Fibrosis, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre for Medical Genetics", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: tovika@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000000322061528>)

Бухарова Татьяна Борисовна — к. б. н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетики стволовых клеток Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 324-20-24; e-mail: bukharova-rmt@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0481-256X>)

Tatiana B. Bukharova, Candidate of Biology, Leading Researcher, Stem Cell Genetics Laboratory, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre for Medical Genetics", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: bukharova-rmt@yandex.ru (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0481-256X>)

Гольдштейн Дмитрий Вадимович — д. б. н., профессор, заведующий лабораторией генетики стволовых клеток Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; тел.: (495) 324-20-24; e-mail: dvgoldrm7@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-1605>)

Dmitry V. Goldshtein, Doctor of Biology Professor, Head of the Stem Cell Genetics Laboratory, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Centre for Medical Genetics", Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: dvgoldrm7@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-1605>)

Участие авторов

Краснова М.Г., Мокроусова Д.О. — проведение экспериментов на кишечных органоидах, количественный анализ результатов, оформление рисунков, написание и редактирование рукописи

Ефремова А.С. — дизайн экспериментов с культурами органоидов, оценка полученных результатов, редактирование рукописи

Мельяновская Ю.Л. — дизайн экспериментов по определению разницы кишечных потенциалов, анализ полученных результатов, оформление рисунков, написание рукописи

Шерман В.Д., Бухарова Т.Б. — дизайн экспериментов на кишечных органоидах, интерпретация результатов, редактирование рукописи

Гольдштейн Д.В. — руководство на всех этапах выполнения работы, редактирование рукописи

Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации, несут ответственность за целостность всех частей статьи.

Authors Contribution

Krasnova M.G., Mokrousova D.O. — conducting experiments on intestinal organoids, quantitative analysis of results, design of figures, writing and editing the manuscript

Efremova A.S. — design of experiments with organoid cultures, evaluation of the results, editing the manuscript

Melyanovskaya Yu.L. — design of experiments on determining the difference in intestinal potentials, analysis of the results, design of figures, writing the manuscript

Sherman V.D., Bukharova T.B. — design of experiments on intestinal organoids, interpretation of the results, editing the manuscript

Goldstein D.V. — guidance at all stages of the work, editing the manuscript

All authors made a significant contribution to the search, analysis, and preparation of the article, read and approved the final version before publication, and are responsible for the integrity of all parts of the article.