

Комплексное исследование редкого патогенного варианта гена *CFTR* G1047S у двух сибсов

Д.О. Мокроусова¹, А.С. Ефремова¹ ✉, Ю.Л. Мельяновская¹, А.Ю. Воронкова¹, С.А. Красовский¹⁻³, М.Г. Краснова¹, Н.В. Рассомахина⁴, Т.Б. Бухарова¹, О.В. Махнач¹, Д.В. Гольдштейн¹, Е.И. Кондратьева¹

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 Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства России: 115682, Россия, Москва, Ореховый бульвар, 28

³ Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница имени С.С.Юдина Департамента здравоохранения города Москвы»: 115446, Россия, Москва, Коломенский проезд, 4

⁴ Институт биохимии имени А.Н.Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»» Российской академии наук: 119071, Россия, Москва, Ленинский проспект, 33, стр. 2

Резюме

Большая часть известных патогенных вариантов гена *CFTR* являются редкими. Изучение этих вариантов позволяет получить новые знания о патогенезе муковисцидоза (МВ), оценить вариативность его проявлений среди пациентов, оптимизировать терапевтические подходы. **Целью** исследования являлось комплексное изучение редкого варианта гена *CFTR* G1047S (с.3139G>A, р.(Gly1047Ser)) у 2 сибсов, включая описание клинической картины, функциональную оценку *CFTR*-канала *ex vivo* методом определения разницы кишечных потенциалов и влияния *CFTR*-модуляторов *in vitro* при помощи форсколинового теста на модели кишечных органоидов (КО). **Материалы и методы.** Приведены клинические данные историй болезни 2 сибсов. Методом определения разницы кишечных потенциалов исследованы мембранные каналы кишечного эпителия, по данным форсколинового теста на культурах КО пациентов оценена чувствительность G1047S варианта гена *CFTR* к действию ивакафтора, лумакафтора, тезакафтора и элексакафтора. **Результаты.** Миссенс-вариант G1047S является патогенным, но «мягким», поскольку сопровождается наличием остаточной функциональной активности *CFTR*-канала. Результаты функциональных тестов соотносятся с клинической картиной: у сибсов наблюдается сохранная функция поджелудочной железы, отсутствует нутритивная недостаточность, течение заболевания нетяжелое. При варианте G1047S может быть рекомендована терапия препаратом ивакафтор + тезакафтор + элексакафтор поскольку на модели КО наблюдается восстановление функциональной активности *CFTR*. **Заключение.** Вариант G1047S является «мягким» и при этом менее чувствительным к известным комбинированным таргетным препаратам по сравнению с F508del/F508del.

Ключевые слова: муковисцидоз, редкие варианты гена *CFTR*, G1047S, кишечные органоиды, метод определения разницы кишечных потенциалов.

Конфликт интересов. Конфликт интересов авторами не заявлен.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Этическая экспертиза. Исследование и форма информированного добровольного согласия были одобрены Этическим комитетом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.10.18. Участники исследования или их законные представители (если участники младше 15 лет) подписали информированное добровольное согласие.

© Мокроусова Д.О. и соавт., 2025

Для цитирования: Мокроусова Д.О., Ефремова А.С., Мельяновская Ю.Л., Воронкова А.Ю., Красовский С.А., Краснова М.Г., Рассомахина Н.В., Бухарова Т.Б., Махнач О.В., Гольдштейн Д.В., Кондратьева Е.И. Комплексное исследование редкого патогенного варианта гена *CFTR* G1047S у двух сибсов. *Пульмонология*. 2025; 35 (2): 230–240. DOI: 10.18093/0869-0189-2025-35-2-230-240

A comprehensive study of a rare pathogenic *CFTR* gene variant G1047S in two siblings

Diana O. Mokrousova¹, Anna S. Efremova¹ ✉, Yulia L. Melyanovskaya¹, Anna Yu. Voronkova¹, Stanislav A. Krasovskiy¹⁻³, Maria G. Krasnova¹, Natalya V. Rassomahina⁴, Tatiana B. Bukharova¹, Oleg V. Makhnach¹, Dmitry V. Goldshstein¹, Elena I. Kondratyeva¹

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 Federal State Budgetary Institution “Pulmonology Scientific Research Institute” under Federal Medical and Biological Agency of Russian Federation: Orekhovyy bul’var 28, Moscow, 115682, Russia

- ³ Moscow State Budgetary Healthcare Institution “Moscow City Hospital named after S.S.Yudin”, Moscow Healthcare Department: Kolomenskiy pr. 4, Moscow, 115446, Russia
- ⁴ A.N.Bach Institute of Biochemistry, Federal State Institution “Federal Research Centre Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences: Leninskiy prospekt 33, build. 2, Moscow, 119071, Russia

Abstract

Most of the known pathogenic variants of the *CFTR* gene are rare. Studying these variants allows us to gain new knowledge about the pathogenesis of cystic fibrosis, assess the variability of its manifestations among patients, and optimize therapeutic approaches. **The aim** was to comprehensively study a rare variant of the *CFTR* gene G1047S (c.3139G>A, p.(Gly1047Ser)) in two siblings, including a description of the clinical picture, functional assessment of the CFTR channel *ex vivo* by determining the intestinal current measurement (ICM) and the forskolin-induced swelling (FIS) assay of the effect of CFTR modulators *in vitro* in the intestinal organoids. **Methods.** The case history was presented. The ICM was used to study membrane channels of the intestinal epithelium. The FIS assay in the intestinal organoids of the patients was used to assess the sensitivity of the G1047S variant to ivacaftor, lumacaftor, tezacaftor, and elxacaftor. **Results.** The missense variant G1047S is pathogenic but “mild” since the residual CFTR function is observed. The results of functional tests are consistent with the clinical picture: the siblings have pancreatic sufficiency, no nutritional deficiency, and a “mild” course of the disease. The ivacaftor + tezacaftor + elxacaftor therapy can be recommended for patients with the G1047S variant since the intestinal organoid model shows restoration of CFTR functional activity. **Conclusion.** The G1047S variant is “mild”, but with lower sensitivity to known combination targeted drugs compared to F508del/F508del.

Key words: cystic fibrosis, rare variants of the *CFTR* gene, G1047S, intestinal organoids, intestinal current measurement.

Conflict of interests. The authors declared no potential conflicts of interest.

Funding. This research was funded within the state assignment of Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre for Medical Genetics” of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Ethical review. The study and the informed voluntary consent form were approved by the Ethics Committee of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Research Centre for Medical Genetics” of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on October 15, 2018. The study participants or their legal representatives (if the participants were under 15 years old) signed the informed voluntary consent.

© Mokrousova D.O. et al., 2025

For citation: Mokrousova D.O., Efremova A.S., Melyanovskaya Yu.L., Voronkova A.Yu., Krasovskiy S.A., Krasnova M.G., Rassomahina N.V., Bukharova T.B., Makhnach O.V., Goldshtein D.V., Kondratyeva E.I. A comprehensive study of a rare pathogenic *CFTR* gene variant G1047S in two siblings. *Pul'monologiya*. 2025; 35 (2): 230–240 (in Russian). DOI: 10.18093/0869-0189-2025-35-2-230-240

Сложность установления диагноза муковисцидоз (МВ) и выбора таргетной терапии обусловлена вариабельностью клинических проявлений заболевания, связанной с аллельной гетерогенностью гена *CFTR* и высокой частотой носительства редких вариантов данного гена. В базе данных CFTR2¹ на 25.09.24 представлена информация о 1 167 вариантах CFTR (из них 1 085 патогенных вариантов, 55 – с варьирующимся клиническим значением, 27 вариантов не вызывают МВ). Редкие варианты гена *CFTR* могут приводить к различным клиническим проявлениям МВ и определять различную тяжесть заболевания. Изучение этих вариантов позволит лучше понять патогенез МВ и вариабельность его проявлений у разных пациентов [1].

Приводятся результаты исследования *CFTR*-генотипа G1047S/W1282X при помощи метода кишечных органоидов (КО) и определения разницы кишечных потенциалов (ОРКП), а также описание клинической картины заболевания у 2 пациентов-сисбсов. По данным российского Регистра пациентов с МВ, на 2022 г. частота варианта G1047S составляет 0,03% и встречается только у 2 сисбсов [2]. В базе данных CFTR2 данный вариант не приведен. При варианте G1047S (c.3139G>A, p.(Gly1047Ser)) происходит замена гуанина в положении 3 139 в 19-м экзоне гена *CFTR* на аденин. Этот миссенс-вариант приводит к замене глицина в 1 047-м положении белка на серин и затрагивает трансмембранный домен 2 (TMD2). Вариант W1282X (c.3846G>A, p.(Trp1282*)) представляет собой однонуклеотидную замену гуанина на аденин в по-

ложении 3 846 в 23-м экзоне гена *CFTR* и является нонсенс-мутацией (I класс), т. е. приводит к образованию преждевременного стоп-кодона. По данным российского Регистра пациентов с МВ, в 2022 г. W1282X занимает 8-е место по распространенности, а его аллельная частота составляет 1,73 % [2]. В базе CFTR2¹ частота данного варианта нуклеотидной последовательности составляет 1,184 % (на 25.09.24).

Форсколиновый тест на КО разработан Дж. Бекманом для решения проблемы подбора таргетной терапии и оценки эффективности *CFTR*-модуляторов у пациентов с МВ, в т. ч. с редкими вариантами гена *CFTR* [3]. КО представляют собой многоклеточные самоорганизующиеся структуры, состоящие из однослойного эпителия, апикальной мембраной обращенного внутрь органоида – в люмен [4]. В настоящее время метод КО широко используется и положительные результаты форсколинового теста на КО, полученных от пациента, могут быть основанием для назначения ему таргетной терапии [5].

Стимуляция КО форсколином в высокой концентрации 5 мкМ приводит к активации всех молекул *CFTR* на апикальной мембране эпителиальных клеток и позволяет оценить остаточную функциональную активность *CFTR*-канала у пациентов с МВ. Совместное воздействие форсколина и таргетных препаратов позволяет определить терапевтический потенциал препаратов для конкретных патогенных вариантов. Применение форсколина в низкой концентрации 0,128 мкМ часто позволяет решить 3 дополнительные задачи:

¹ <https://cftr2.org>

- во-первых, данные условия стимуляции CFTR-канала для «тяжелых» генотипов можно рассматривать в качестве отрицательного контроля при проведении форсколинового теста;
- во-вторых, часто при исследовании «мягких» генотипов с высокой остаточной активностью хлорного канала влияние CFTR-модуляторов невозможно оценить при стимуляции форсколином 5 мкМ, поскольку КО быстро набухают до максимального размера и влияние CFTR-модуляторов в этих условиях неразличимо. При этом менее сильная стимуляция форсколином 0,128 мкМ позволяет определить влияние малых молекул на фоне высокой остаточной функции CFTR;
- в-третьих, при получении пограничных положительных результатов влияния таргетных препаратов при стимуляции форсколином 5 мкМ дополнительная оценка влияния таргетных препаратов при воздействии форсколином 0,128 мкМ вносит коррективы при принятии решения о рекомендации таргетной терапии.

Целью работы являлось комплексное изучение редкого варианта гена *CFTR* G1047S (с.3139G>A, р.(Gly1047Ser)) у 2 сибсов, включая описание клинической картины, функциональную оценку CFTR-канала *ex vivo* методом ОРКП и влияния CFTR-модуляторов *in vitro* при помощи форсколинового теста на модели КО.

Материалы и методы

Использовались данные выписок пациентов, предоставленных законными представителями пациентов и данные Регистра пациентов с МВ в Российской Федерации» (2013–2024). Проект «Регистр больных МВ Российской Федерации» одобрен Комитетом по этике Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» 20.12.12. Пациентами и законными представителями пациентов младше 15 лет подписано добровольное информированное согласие.

Исследование и форма информированного согласия одобрены Этическим комитетом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П.Бочкова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.10.18 (председатель – профессор Л.Ф.Курило).

Обследование пациентов проведено согласно требованиям клинических рекомендаций (2021) [6].

Забор ректальных биоптатов проводился на оборудовании *Olympus Disposable EndoTherapy EndoJaw Biopsy forceps (model #FB-23OU)*. ОРКП проводилось согласно европейским стандартным операционным процедурам V2.7_26.10.11 [7] и было подробно описано ранее [8, 9]. При работе с культурами КО и проведении форсколинового теста за основу были взяты протоколы, разработанные под руководством Дж.Бекмана (*J.M. Beekman*) [3, 10, 11].

Эксперименты проводились на 3 культурах КО:

- 2 культуры получены от сибсов с исследуемым генотипом G1047S/W1282X;

- 1 – контрольная культура с генотипом F508del/F508del.

Для получения культуры КО необходимы 2–3 биоптата кишечного эпителия. Полученные биоптаты каждого пациента с целью разрыхления ткани были несколько раз промыты холодным (4 °С) фосфатно-буферным солевым раствором (*Phosphate Buffered Saline – PBS*) без ионов Ca²⁺ и Mg²⁺ (ПанЭко, Россия) и обработаны раствором 10 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (*EthyleneDiamineTetraacetic Acid – EDTA*) (*Thermo Fisher Scientific*, США) в PBS без ионов Ca²⁺ и Mg²⁺ в течение 30 мин при 4 °С на ротационном шейкере.

Для высвобождения отдельных крипт обработанные ректальные биоптаты с помощью серологической пипетки интенсивно промывались в растворе PBS и осаждались в центрифуге 5 мин при 130 г и 4 °С. К осадку крипт добавлялась смесь *Matrigel* (*Corning*, США) с полнокомпонентной средой (50 % – *Matrigel*, 50 % – среды), затем полученная суспензия с криптами в виде небольших капель (примерно по 10 мкл) помещалась в лунки 24-луночного планшета. После полимеризации капель в течение 30 мин при температуре 37 °С они заливались полнокомпонентной средой. Каждые 1–2 дня проводилась полная замена среды. Состав полнокомпонентной культуральной среды был следующим:

- 18 % среды *Advanced DMEM/F12* (*Thermo Fisher Scientific*, США), содержащей 4 мМ L-глутамин (ПанЭко, Россия), 10 мМ HEPES (ПанЭко, Россия) (25 000 ед и 25 мг на 500 мл среды соответственно), пенициллин / стрептомицин (ПанЭко, Россия);
- 50 % Wnt-3A-кондиционированной среды;
- 20 % *R-spondin-1* кондиционированной среды;
- 10 % *Noggin*-кондиционированной среды;
- 2 % B27 (*Life Technologies: Gibco*, США);
- 50 нг / мл рекомбинантного hEGF (*ProSpec*, Израиль);
- 1,25 мМ N-ацетилцистеина (*Sigma-Aldrich*, США);
- 10 мМ никотинамида (*Sigma-Aldrich*, США), 5 мкМ A83-01 (*Tocris*, Великобритания);
- 10 мкМ SB 202190 (*Sigma-Aldrich*, США);
- 100 мкг / мл примоцина (*InvivoGen*, США).

Кондиционированные среды, содержащие ростовые факторы, получали самостоятельно, как описано в работе [12].

После недельного почкования и роста ректальные крипты пассировались. Для этого капли *Matrigel* с криптами разбивались и интенсивно пипетировались в среде *Advanced DMEM / F12* для диссоциации разросшихся крипт на небольшие фрагменты (органойды). Полученная суспензия КО осаждалась в центрифуге 5 мин при 130 г и 4 °С, осадок смешивался с 50 % *Matrigel* и высевался на 24-луночный планшет по аналогии с криптами. Каждые 1–2 дня проводилась полная замена среды. Повторные пассирования КО осуществлялись примерно 1 раз в неделю.

Культуры КО за 1 день до проведения форсколинового теста высевались на 96-луночный планшет (в лунки наливалась полнокомпонентная среда с корректорами лумакафтором (VX-809), тезакафтором

(VX-661), элексакафтором (VX-445) от *Selleckchem* (США) или без них) и инкубировались в течение 24 ч. Итоговая концентрация всех корректоров в среде составила 3,5 мкМ.

За 1 ч до проведения форсколинового теста КО окрашивались раствором 0,84 мкМ *Calcein AM* (*Biotium*, США). Затем с помощью флуоресцентного микроскопа снималась нулевая точка ($t = 0$ мин), добавлялись растворы форсколина (5 и 0,128 мкМ) или форсколина (5 и 0,128 мкМ) с потенциатором ивакафтором и / или корректорами лумакафтором, тезакафтором, элексакафтором в концентрациях 3,5 мкМ. Форсколин использовался производства *Sigma-Aldrich* (США), потенциатор ивакафтор – *Selleckchem* (США). С помощью микроскопа каждые 10 мин в течение 1 ч снимался ответ КО на форсколин и модуляторы. С использованием программы *Image J* определено изменение размера КО при стимуляции форсколином и модуляторами. Для этого производилась оценка набухания КО в разных временных точках по сравнению с нулевой точкой (размер органоидов при $t = 0$ мин принимался за 100 %).

Результаты

Клиническое наблюдение № 1

Пациент № 1, женского пола, 2003 года рождения. Диагноз муковисцидоз (E84.0), генотип G1047S/W1282X. Хронический гнойный обструктивный бронхит, распространенные множественные бронхоэктазы. Дыхательная недостаточность 0-й степени. Хронический риносинусит. Микробный статус – хронический рост метициллин-чувствительного *Staphylococcus aureus* (MSSA), рост *Pseudomonas aeruginosa* с 2019 г., эрадикация в 2021 г., *Stenotrophomonas maltophilia*. Однократный высев *Aspergillus flavus*.

Сопутствующий диагноз: экзогенно-конституциональный тип ожирения; аутоиммунный тиреоидит.

Диагноз МВ заподозрен в возрасте 11 лет на основании семейного анамнеза – рождение сибса с положительным неонатальным скринингом на МВ, диагноз пациентки подтвержден результатами положительной потовой пробы (Нанодакт) – 103,5 и 97,8 ммоль / л и молекулярно-генетической диагностики – компаунд-гетерозигота G1047S/W1282X.

За время наблюдения – жалобы на боли в животе, эпизоды госпитализаций с клинико-лабораторной картиной панкреатита. Обострения бронхолегочного процесса и хронического риносинусита редкие, нетяжелые. В 16 лет – первый высев *P. aeruginosa*, в течение 2 лет – рецидивирующий рост, эрадикация – в 18 лет (в 2021 г.). Курсы внутривенной терапии – 1 раз в год.

При осмотре в возрасте 21 года: деформация грудной клетки, лицевого скелета, дистальных фаланг и ногтевых пластин отсутствует. Отставания в физическом развитии нет, диагностировано конституционально-алиментарное ожирение, индекс массы тела (ИМТ) – 32,35 (масса тела – 87 кг, рост – 164 см). Кишечный синдром отсутствует, при применении панкреатина – запоры.

Обследование. По данным компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки (ОГК) за время наблюдения – отрицательная динамика за счет формирования многочисленных распространенных бронхоэктазов, бронхиолоэктазов, бронхиальной обструкции, перибронхита.

Функция внешнего дыхания (ФВД) в начале наблюдения в 10 лет: объем форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ₁) – 109 %_{долж.}, форсированная жизненная емкость легких (ФЖЕЛ) – 113 %_{долж.}; в динамике за 11 лет наблюдения: ОФВ₁ – 86 %_{долж.}, ФЖЕЛ – 102 %_{долж.}, вентиляционной недостаточности нет, умеренная деградация показателей ФВД.

По данным ультразвукового исследования органов брюшной полости – признаки диффузных изменений печени, поджелудочной железы, без динамики за время наблюдения.

Панкреатическая эластаза: однократно > 200 мкг / г кала, нормальная функция поджелудочной железы.

Нарушений углеводного обмена нет.

Получает курсы внутривенной терапии при обострении, эзомепразол курсами, урсодоэксилевую кислоту, ингаляции дорназы альфа, 7%-го гипертонического раствора натрия хлорида, жирорастворимые витамины, кинезитерапию.

Клиническое наблюдение № 2

Пациент № 2, сибс мужского пола, 2013 года рождения. Диагноз муковисцидоз (E84.0). Генотип G1047S/W1282X. Хронический гнойный обструктивный бронхит. Дыхательная недостаточность 0-й степени. Хронический риносинусит, состояние после оперативного вмешательства – радикальная полисинусотомия (2018). *Микробиологический диагноз:* первый высев *P. aeruginosa* – в 2018 г., эрадикация в 2021 г., однократный высев *Stenotrophomonas maltophilia*, хронический рост MSSA.

МВ диагностирован по данным положительного неонатального скрининга, подтвержден потовыми пробами – 81 и 71 ммоль / л и результатом ДНК-диагностики – генотип G1047S/W1282X.

За время наблюдения – обострения бронхолегочного процесса редкие, нетяжелые. Обострения риносинусита частые, оперативное вмешательство по поводу полипозного гайморита, полипоза носовых ходов в возрасте 5 лет. Панкреатическая эластаза однократно > 200 мкг / г кала – нормальная функция поджелудочной железы.

При осмотре в 8 лет отставания в физическом развитии нет, ИМТ – 14,4 (z -score – 0,66, 25-й перцентиль), грудная клетка не деформирована, признаки хронической гипоксии отсутствуют – деформация дистальных фаланг и ногтевых пластин, кишечный синдром не выявлены. Стул – 1 раз в сутки, эпизоды запоров – до 3 дней. Видимой стеатореи, полифекалии нет.

При динамическом наблюдении в возрасте 11 лет 3 мес. отставания в физическом развитии нет, ИМТ – 20,31 / перцентиль – 95,54, z -score – 1,7, масса тела – 46 кг / 98,42 перцентиль, z -score – 2,15, рост – 150,5 см / 98,07 перцентиль, z -score – 2,07.

Обследование. В посевах мокроты – рост MSSA, *Stenotrophomonas maltophilia*.

По данным рентгенографии (РГ) ОГК легкие вздуты, легочный рисунок деформирован, усилен, корни расширены, не структурны. Отрицательной динамики за время наблюдения не отмечено.

КТ околоносовых пазух (2024): признаки риносинусита, отрицательная динамика по сравнению с исследованием после оперативного вмешательства в 2018 г. (в 10 лет): – тотальное заполнение верхнечелюстных пазух, полипоз носовых ходов слева.

ФВД в начале наблюдения (в 10 лет): ОФВ₁ – 109 %_{долж.}, ФЖЕЛ – 113 %_{долж.}, за время наблюдения ОФВ₁ снизилось до 95 %_{долж.}, а ФЖЕЛ – до 108 %_{долж.}, вентиляционной не-

достаточности нет, деградация показателей ФВД незначительная.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости: паренхима печени – нормальной эхогенности, поджелудочной железы – повышенной эхогенности, что может отмечаться при хроническом панкреатите, за время наблюдения – без динамики. По данным фиброэзофагогастродуоденоскопии – гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, эрозивный эзофагит.

Терапия: урсодезоксихолевая кислота, эзомепразол, ингаляции дорназа альфа 2,5 мг через мундштук и 1,25 мг в каждый носовой ход при использовании ингалятора «Пари Синус», 7%-ный гипертонический раствор натрия хлорида, колекальциферол, кинезитерапия.

Таким образом, у разнополых сибсов с диагнозом МВ, рожденных в одном браке с разницей в 10 лет, отмечена преимущественно легочная форма заболевания, МВ подтвержден молекулярно-диагностическим тестированием, течение заболевания – нетяжелое, с преобладанием клинических симптомов рецидивирующего панкреатита у старшего сибса до диагностики МВ, полипозного риносинусита – у младшего сибса, отсутствием тяжелых обострений бронхолегочной системы, несмотря на изменения по данным РГ ОГК, у обоих сибсов – стойкая эрадикация *P. aeruginosa* и высокие показатели физического развития – ожирение у обоих сибсов. Учитывая редкость патогенного варианта р.Gly1047Ser, были проведены функциональные тесты оценки хлорного канала (потова проба и метод ОРКП) и форсколиновый тест на КО обоих сибсов с целью персонализированного подбора таргетной терапии.

Результаты оценки функциональной активности мембранных каналов методом определения разницы кишечных потенциалов

По результатам проведенного исследования методом ОРКП (рис. 1, 2) установлено следующее: плотность тока короткого замыкания (ΔI_{sc}) в ответ на добав-

ление амилорида (ENaC-канал) составила $-8,5 \pm 2,32 \mu A / cm^2$ у сестры и $-17,67 \pm 4,61 \mu A / cm^2$ – у брата. Изменение плотности тока в ответ на добавление форсколина (CFTR-канал) составило $13,67 \pm 4,48 \mu A / cm^2$ у сестры (см. рис. 1) и $19,5 \pm 2,47 \mu A / cm^2$ – у брата (см. рис. 2), что указывает на снижение функции хлорного канала, особенно у старшей сестры. Изменение ΔI_{sc} в ответ на добавление гистамина (CaCCs-канал) происходит в отрицательную сторону, что отражает приток ионов калия в клетки. При этом плотность тока составила $14,83 \pm 1,81 \mu A / cm^2$ – у девушки и $16,17 \pm 5,66 \mu A / cm^2$ – у мальчика.

Результаты форсколинового теста на кишечных органоидах пациентов

Генотип сибсов, помимо редкого варианта с неизвестной патогенностью, включает нонсенс-вариант W1282X, для которого характерна полная утрата функции CFTR-канала. Следовательно, при воздействии только форсколина без таргетных веществ набухание КО будет обусловлено остаточной активностью G1047S-CFTR белка.

При действии 0,128 мкМ форсколина ни одна из исследуемых культур, включая F508del/F508del (контроль), не отвечает набуханием (рис. 3). При стимуляции КО форсколином 5 мкМ в течение 1 ч обе культуры с G1047S-вариантом увеличивают площадь по сравнению с исходным размером (пациент № 1 – на 15 %, пациент № 2 – на 17 %), следовательно, функциональная активность CFTR-канала при генотипе G1047S/W1282X утрачивается не полностью, а вариант G1047S можно рассматривать как «мягкий». Контрольная культура КО с генотипом F508del/F508del ожидаемо не набухает при действии форсколина, что характерно для «тяжелых» генотипов (см. рис. 3, 4). При действии потенциатора VX-770 (+5 мкМ форсколина) размер G1047S/W1282X КО увеличивается на 26 и 29 % по сравнению с исходным

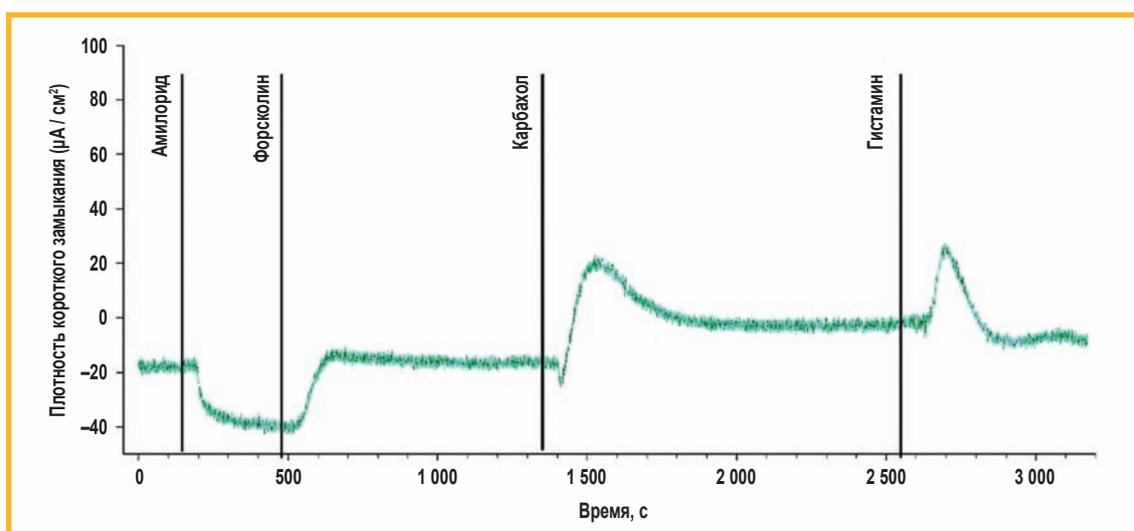


Рис. 1. Результаты исследования функции мембранных каналов методом определения разницы кишечных потенциалов у сестры в возрасте 19 лет (генотип G1047S/W1282X)

Figure 1. Results of the membrane channel function assay by the intestinal potential difference method in a 19-year-old sister (genotype G1047S/W1282X)

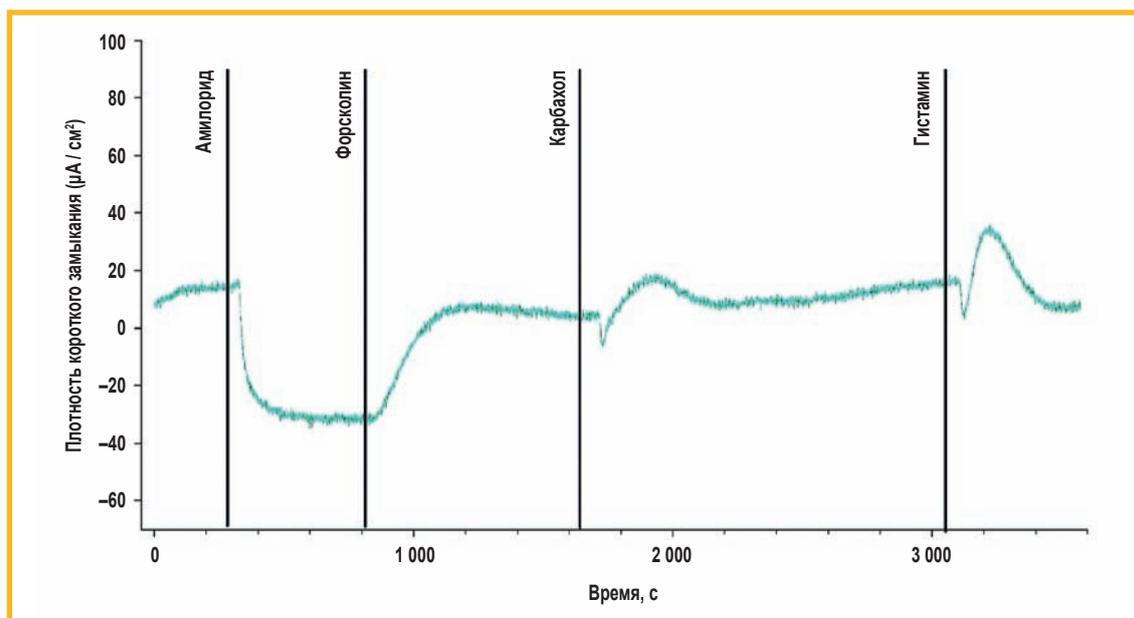


Рис. 2. Результаты исследования функции мембранных каналов методом определения разницы кишечных потенциалов у брата в возрасте 9 лет (генотип G1047S/W1282X)

Figure 2. Results of the membrane channel function assay by the determining the difference in intestinal potentials in a brother aged 9 years (genotype G1047S/W1282X)

размером (см. рис. 3, 4). При действии корректора VX-809 (+5 мкМ форсколина) происходит увеличение размера КО обеих исследуемых культур на 20 % по сравнению с исходным размером. Таким образом, на фоне высокой остаточной активности G1047S-CFTR белка самостоятельное влияние только потенциатора и только корректора крайне незначительно.

Обе G1047S-культуры КО отвечают 33%-ным набуханием на стимуляцию комбинацией VX-770 и VX-809 (+5 мкМ форсколин). Ответы F508del/F508del КО выше при данных условиях обработки и составляют 60 % (см. рис. 3, 4). Комбинированное использование VX-770 и VX-661 (+5 мкМ форсколина) приводит к увеличению размера КО на 42 и 39 % для культур, полученных от пациентов № 1 и № 2 соответственно. Полученные результаты сопоставимы с ответом на VX-770+VX-661 контрольной культуры.

При сочетании VX-770, VX-661 и VX-445 (см. рис. 3, 4) также наблюдается положительный эффект, размер КО увеличивается на 43 и 50 % для культур, полученных от пациента № 1 и № 2 соответственно, по сравнению с исходным размером (+5 мкМ форсколина). При сравнении с контрольной F508del/F508del-культурой сделан вывод о том, что генотип G1047S/W1282X менее чувствителен к тройному таргетному препарату, поскольку контрольная культура отвечает значительным набуханием, а площадь увеличивается более чем в 2 раза при стимуляции форсколином 5 мкМ (на 112 %).

Таким образом, в целом результаты оценки остаточной функции CFTR хлорного канала и влияния CFTR-модуляторов соотносятся между культурами, полученными от сибсов. Небольшие отличия наблюдались лишь при оценке влияния таргетных препа-

ратов при стимуляции форсколином 0,128 мкМ, КО пациента № 1 (старшая сестра) не отвечают на действие модуляторов, а КО пациента № 2 (младший брат) незначительно набухают под влиянием двойных и тройных таргетных препаратов (10–17 %).

Обсуждение

Описан редкий генетический вариант G1047S у 2 сибсов якутской национальности. В российском Регистре пациентов с МВ числятся только 2 пациента с этим патогенным вариантом. В CLINVAR G1047S описан как вариант с неясной значимостью², а в базах CFTR1, CFTR2 информации о G1047S нет, в базах данных населения мира (ExAC) частота также отсутствует. Вариант G1047S относится к миссенс-мутациям и согласно алгоритмам прогнозирования влияния данного варианта на функцию белка (SIFT, PolyPhen-2, Align-GVGD), ожидается, что он является «мягким».

По данным *А.Ю. Воронковой и соавт.* (2021) [13] показано, что клиническое течение заболевания у сибсов выражено в виде преимущественно легочной формы. На фоне сохранной функции поджелудочной железы (фекальная эластаза > 200 мкг / г – у обоих пациентов), при этом у старшей сестры наблюдался рецидивирующий панкреатит, а у брата отмечены только изменения структуры при ультразвуковом исследовании. Тяжелые обострения бронхолегочной системы отсутствуют, несмотря на изменения по данным РГ ОГК. За прошедший период резкого изменения течения заболевания не отмечается. Интересно, что у обоих сибсов установлено ожирение.

При помощи форсколинового теста на КО оцениваются степень нарушения функции хлорного

² <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/950097/evidence/>

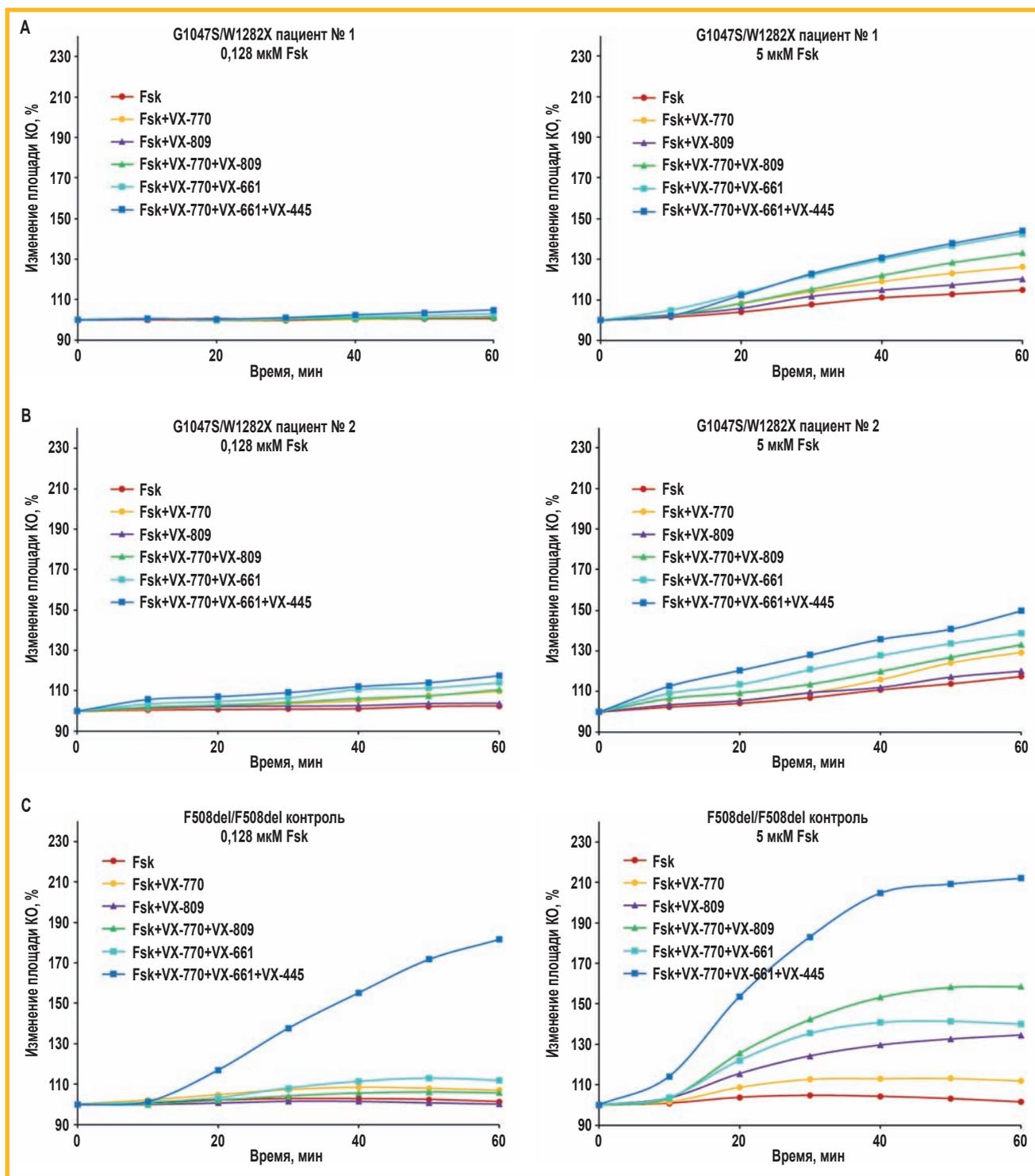


Рис. 3. Результаты анализа изменения размера культур органоидов, полученных от пациентов 1 и 2 с генотипом G1047S/W1282X (A, B) и F508del/F508del контрольной культуры (C) при воздействии форсколина и CFTR-модуляторов (VX-770 – ивакафтор, VX-809 – люмакафтор, VX-661 – тезакафтор, VX-445 – элексакафтор)
Примечание: КО – кишечные органоиды; Fsk – форсколин.

Figure 3. Analysis of changes in the size of organoid cultures obtained from patients 1 and 2 with the G1047S/W1282X genotype (A, B) and the F508del/F508del control culture (C) after the treatment with forskolin and CFTR modulators (VX-770 – ivacaftor, VX-809 – lumacaftor, VX-661 – tezacaftor, VX-445 – ellexacaftor)

CFTR-канала и эффективность CFTR-модуляторов для пациентов с разными классами генетических вариантов, в т. ч. редкими. Стимуляция форсколином вызывает активацию CFTR в эпителиальных клетках кишечника и набухание КО. За последние 10 лет форсколиновый тест на КО, полученных от паци-

ентов с МВ, зарекомендовал себя как надежный метод для оценки эффективности CFTR-модуляторов. Например, в 2023 г. под руководством Д.Бекмана на культурах КО, полученных от пациентов с редкими вариантами гена *CFTR*, проведен высокопроизводительный скрининг 1 400 соединений,

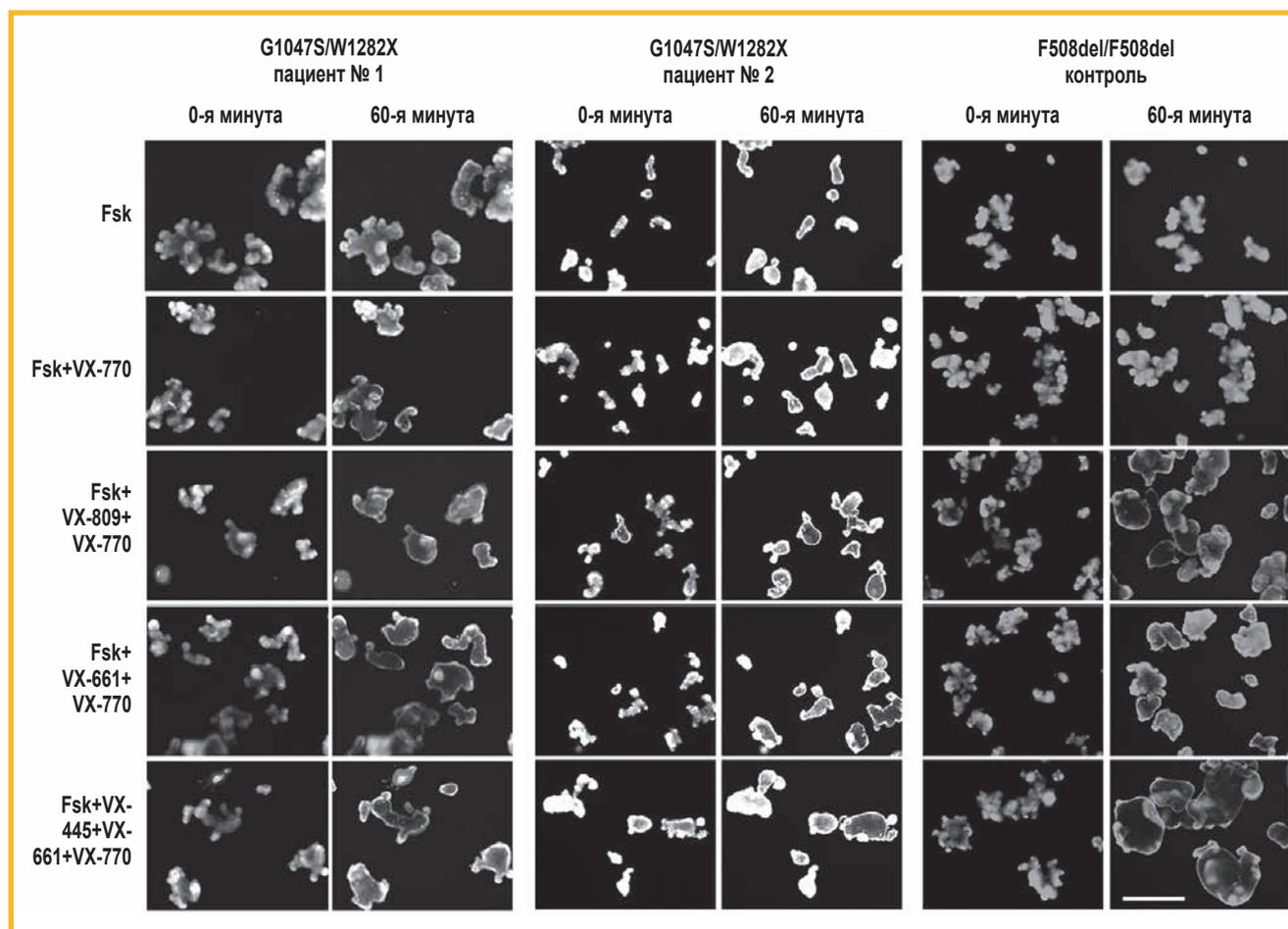


Рис. 4. Репрезентативные изображения кишечных органоидов с исследуемым (G1047S/W1282X) и контрольным (F508del/F508del) генотипами в начале (0-я минута) и конце (60-я минута) форсколинового теста. Концентрация форсколина – 5 мкМ; масштабная шкала – 500 мкм; VX-770 – ивакафтор, VX-809 – лумакафтор, VX-661 – тезакафтор, VX-445 – элексакафтор
Примечание: Fsk – форсколин.

Figure 4. Representative images of intestinal organoids with the studied (G1047S/W1282X) and control (F508del/F508del) genotypes at the beginning (0 min) and end (60 min) of the forskolin test. The forskolin concentration is 5 μ M; the scale is 500 μ m; VX-770 – ivacaftor, VX-809 – lumacaftor, VX-661 – tezacaftor, VX-445 – elexacaftor

одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration – FDA), с целью поиска новых таргетных молекул. В ходе исследований показан терапевтический потенциал для ингибиторов PDE4, а также несколько новых перспективных CFTR-модуляторов [14]. J.W.Lefferts et al. (2023) [5] изучено действие препарата ивакафтор / тезакафтор / элексакафтор на модели КО у 22 пациентов с редкими вариантами гена CFTR.

В данном исследовании *in vitro* набухание КО в ответ на форсколин и *ex vivo* – изменение плотности тока короткого замыкания при проведении ОРКП при действии форсколина позволили зафиксировать остаточную функцию хлорного CFTR-канала. Результаты функциональных тестов соотносятся с «мягким» фенотипом, что выражается сохранением функции поджелудочной железы у обоих sibсов, отсутствием нутритивной недостаточности, нетяжелым течением заболевания.

Интересно, что функция CFTR-канала у младшего брата была немного выше, чем у сестры. Это подтверждает данные о снижении функции хлорного канала с возрастом [15].

Оценка действия CFTR-модуляторов на модели КО является основанием для назначения комбинации VX-770, VX-661 и VX-445 в качестве таргетного препарата (ивакафтор / тезакафтор / элексакафтор) для обоих sibсов. Однако в целом эффекты модуляторов слабые, учитывая наличие остаточной функции CFTR. Авторы предполагают, что наблюдаемые умеренные ответы связаны с сайтами взаимодействия CFTR-модуляторов. Так, лумакафтор и тезакафтор взаимодействуют с трансмембранными α -спиралями белка ТМН1, ТМН2, ТМН3 и ТМН6 [16], а ивакафтор взаимодействуют с ТМН4, ТМН5 и ТМН8 [17]. Следовательно, все 3 перечисленных модулятора в первую очередь способствуют восстановлению структуры TMD1 (трансмембранного домена 1) и NBD1 (нуклеотид-связывающего домена 1), которые вариант G1047S, находящийся в TMD2, даже не затрагивает. Значительного положительного действия элексакафтора, сайты взаимодействия которого с CFTR локализируются в TMD2 (аминокислоты – W1098, R1102, M1105 и др.) и *lasso motif* [17], также не наблюдается. Вероятно, непосредственная близость исследуемого варианта G1047S к сайту взаимодействия элексака-

фтора с CFTR может изменять третичную структуру TMD2 в этом участке и, следовательно, препятствовать / нарушать взаимодействие элексафтора со своим «местом посадки».

Заключение

Продемонстрировано, что миссенс-вариант G1047S является патогенным, но «мягким», поскольку сопровождается наличием остаточной функциональной активности CFTR-канала. Результаты функциональных тестов соотносятся с «мягким» фенотипом, что выражается сохранением функции поджелудочной железы у обоих sibсов, отсутствием нутритивной недостаточности, нетяжелым течением заболевания. Положительное влияние двойного комбинированного (ивакафтор + лумакафтор) и тройного комбинированного (ивакафтор + тезакафтор + элексакафтор) препаратов в отношении генотипа G1047S/W1282X слабее по сравнению с F508del/F508del, несмотря на сохранность функционального CFTR. Тем не менее 2 sibсам с генотипом G1047S/W1282X может быть рекомендована терапия тройным комбинированным препаратом, поскольку на модели КО наблюдается восстановление функциональной активности CFTR.

Литература

1. Fajac I., Burgel P.R., Martin C. New drugs, new challenges in cystic fibrosis care. *Eur. Respir. Rev.* 2024; 33 (173): 240045. DOI: 10.1183/16000617.0045-2024.
2. Воронкова А.Ю., Амелина Е.Л., Каширская Н.Ю. и др. Регистр пациентов с муковисцидозом в Российской Федерации. 2022 год. М.: Медпрактика-М; 2024.
3. Vonk A., van Mourik P., Ramalho A. et al. Protocol for application, standardization and validation of the forskolin-induced swelling assay in cystic fibrosis human colon organoids. *STAR Protoc.* 2020; 1 (1): 100019. DOI: 10.1016/j.xpro.2020.100019.
4. Ефремова А.С., Бухарова Т.Б., Каширская Н.Ю., Гольдштейн Д.В. Применение кишечных органоидов для персонализированной диагностики и терапии муковисцидоза. *Медицинская генетика.* 2018; 17 (9): 3–12. Доступно на: <https://www.medgen-journal.ru/jour/article/view/579>
5. Lefferts J.W., Bierlaagh M.C., Kroes S. et al. CFTR function restoration upon Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor treatment in patient-derived intestinal organoids with rare CFTR genotypes. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24 (19):14539. DOI: 10.3390/ijms241914539.
6. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Клинические рекомендации: Кистозный фиброз (муковисцидоз). 2021. Доступно на: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/372_2
7. 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.
8. Kondratyeva E., Efremova A., Melyanovskaya Y. et al. Clinical and genetic characterization of patients with cystic fibrosis and functional assessment of the chloride channel with the pathogenic variant c.831G>A (p.Trp277*), described for the first time. *Gene.* 2020; 761: 145023. DOI: 10.1016/j.gene.2020.145023.
9. Мельяновская Ю.Л., Кондратьева Е.И., Куцев С.И. Определение референтных значений для метода определения разности кишечных потенциалов в Российской Федерации. *Медицинский вестник Северного Кавказа.* 2020; 15 (2): 162–166. DOI: 10.14300/mnnc.2020.15039.
10. Dekkers J.F., Wiegerinck C.L., de Jonge H.R. et al. A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. *Nat. Med.* 2013; 19 (7): 939–945. DOI: 10.1038/nm.3201.

11. 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.
12. Кондратьева Е.И., Мельяновская Ю.Л., Ефремова А.С. и др. Опыт применения методов оценки функциональности анионного канала CFTR у пациентов с установленным и предполагаемым диагнозом муковисцидоза. *Сибирское медицинское обозрение.* 2019; (2): 60–69. DOI: 10.20333/2500136-2019-2-60-69.
13. Воронкова А.Ю., Мельяновская Ю.Л., Петрова Н.В. и др. Клинико-генетическая характеристика редких патогенных вариантов в гене CFTR у российских больных муковисцидозом. *Пульмонология.* 2021; 31 (2): 148–158. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-2-148-158.
14. de Poel E., Spelier S., Hagemeyer M.C. et al. FDA-approved drug screening in patient-derived organoids demonstrates potential of drug repurposing for rare cystic fibrosis genotypes. *J. Cyst. Fibros.* 2023; 22 (3): 548–559. DOI: 10.1016/j.jcf.2023.03.004.
15. Venkatachalam K. Regulation of aging and Longevity by Ion channels and transporters. *Cells.* 2022; 11 (7): 1180. DOI: 10.3390/cells11071180.
16. Fiedorzuk K., Chen J. Mechanism of CFTR correction by type I folding correctors. *Cell.* 2022; 185 (1): 158–168.e11. DOI: 10.1016/j.cell.2021.12.009.
17. Fiedorzuk K., Chen J. Molecular structures reveal synergistic rescue of F508del CFTR by Trikafta modulators. *Science.* 2022; 378 (6613): 284–290. DOI: 10.1126/science.ade2216.

Поступила: 15.01.25
Принята к печати: 22.02.25

References

1. Fajac I., Burgel P.R., Martin C. New drugs, new challenges in cystic fibrosis care. *Eur. Respir. Rev.* 2024; 33 (173): 240045. DOI: 10.1183/16000617.0045-2024.
2. Voronkova A.Yu., Amelina E.L., Kashirskaya N.Yu. et al. [Register of patients with cystic fibrosis in the Russian Federation. 2022]. Moscow: Medpraktika-M; 2024 (in Russian).
3. Vonk A., van Mourik P., Ramalho A. et al. Protocol for application, standardization and validation of the forskolin-induced swelling assay in cystic fibrosis human colon organoids. *STAR Protoc.* 2020; 1 (1): 100019. DOI: 10.1016/j.xpro.2020.100019.
4. Efremova A.S., Bukharova T.B., Kashirskaya N.Y., Goldshtein D.V. [Intestinal organoids and their application for personalized diagnostics and treatment of cystic fibrosis]. *Meditsinskaya genetika.* 2018; 17(9):3–12. Available at: <https://www.medgen-journal.ru/jour/article/view/579> (in Russian).
5. Lefferts J.W., Bierlaagh M.C., Kroes S. et al. CFTR function restoration upon Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor treatment in patient-derived intestinal organoids with rare CFTR genotypes. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24 (19):14539. DOI: 10.3390/ijms241914539.
6. Ministry of Health of the Russian Federation. [Clinical guidelines: Cystic fibrosis]. 2021. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/preview-cr/372_2 (in Russian).
7. 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.
8. Kondratyeva E., Efremova A., Melyanovskaya Y. et al. Clinical and genetic characterization of patients with cystic fibrosis and functional assessment of the chloride channel with the pathogenic variant c.831G>A (p.Trp277*), described for the first time. *Gene.* 2020; 761: 145023. DOI: 10.1016/j.gene.2020.145023.
9. Melyanovskaya Yu.L., Kondratyeva E.I., Kutsev S.I. [Determination of reference values for the method of determining the difference in intestinal potentials in the Russian Federation]. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza.* 2020; 15: 162–166. DOI: 10.14300/mnnc.2020.15039 (in Russian).
10. Dekkers J.F., Wiegerinck C.L., de Jonge H.R. et al. A functional CFTR assay using primary cystic fibrosis intestinal organoids. *Nat. Med.* 2013; 19 (7): 939–945. DOI: 10.1038/nm.3201.
11. 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.
12. Kondratyeva E.I., Melyanovskaya Yu.L., Efremova A.S. et al. [Experience of evaluating functionality of anionic CFTR channel methods application in patients with cystic fibrosis diagnosed and supposed]. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. 2019; (2): 60–69. DOI: 10.20333/2500136-2019-2-60-69 (in Russian).
 13. Voronkova A.Yu., Melyanovskaya Yu.L., Petrova N.V. et al. [Clinical and genetic characteristics of rare pathogenic variants in the CFTR gene in Russian patients with cystic fibrosis]. *Pul'monologiya*. 2021; 31 (2): 148–158. DOI: 10.18093/0869-0189-2021-31-2-148-158 (in Russian).
 14. de Poel E., Spelier S., Hagemer M.C. et al. FDA-approved drug screening in patient-derived organoids demonstrates potential of drug repurposing for rare cystic fibrosis genotypes. *J. Cyst. Fibros.* 2023; 22 (3): 548–559. DOI: 10.1016/j.jcf.2023.03.004.
 15. Venkatachalam K. Regulation of aging and Longevity by Ion channels and transporters. *Cells*. 2022; 11 (7): 1180. DOI: 10.3390/cells11071180.
 16. Fiedorczuk K., Chen J. Mechanism of CFTR correction by type I folding correctors. *Cell*. 2022; 185 (1): 158–168.e11. DOI: 10.1016/j.cell.2021.12.009.
 17. Fiedorczuk K., Chen J. Molecular structures reveal synergistic rescue of F508del CFTR by Trikafta modulators. *Science*. 2022; 378 (6613): 284–290. DOI: 10.1126/science.ade2216.

Received: January 15, 2025

Accepted for publication: February 22, 2025

Информация об авторах / Authors Information

Мокроусова Диана Олеговна – 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: diana-mok2000@yandex.ru (SPIN-код: 1683-2192; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2066-0009>)
Diana O. Mokrousova, Junior Researcher, Laboratory of Stem Cell Genetics, 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: diana-mok2000@yandex.ru (SPIN-code: 1683-2192; 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 (SPIN-код: 6006-8355; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5035-6396>)

Anna S. Efremova, Candidate of Biology, Leading research scientist of 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 (SPIN-code: 6006-8355; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5035-6396>)

Мельяновская Юлия Леонидовна – к. м. н., старший научный сотрудник 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: melcat@mail.ru (SPIN-код: 5828-0122; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8814-5532>)

Yuliya L. Melyanovskaya, Candidate of Medicine, Senior 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; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: melcat@mail.ru (SPIN-code 5828-0122; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8814-5532>)

Воронкова Анна Юрьевна – 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: voronkova111@yandex.ru (SPIN-код: 2294-6675; Scopus Author ID: 57189352251; Web of Science Researcher ID: M-7191-2014; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8183-7990>)

Anna Yu. Voronkova, Candidate of Medicine, Leading 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; tel.: (495) 324-20-24; e-mail: voronkova111@yandex.ru (SPIN-code: 2294-6675; Scopus Author ID: 57189352251; Web of Science Researcher ID: M-7191-2014; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8183-7990>)

Красовский Станислав Александрович – к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории муковисцидоза Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт пульмонологии» Федерального медико-биологического агентства; 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; врач-пульмонолог отделения респираторной медицины Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая

больница имени С.С.Юдина Департамента здравоохранения города Москвы»; тел.: (926) 273-76-34; e-mail: sa_krasovsky@mail.ru (SPIN-код: 3385-6489; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9642-0947>)

Stanislav A. Krasovskiy, Candidate of Medicine, Senior Researcher, Laboratory of Cystic Fibrosis, Federal State Budgetary Institution “Pulmonology Scientific Research Institute” under Federal Medical and Biological Agency of Russian Federation; Leading 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; Pulmonologist, Department of Respiratory Medicine, Moscow State Budgetary Healthcare Institution “Moscow City Hospital named after S.S.Yudin”, Moscow Healthcare Department; tel.: (926) 273-76-34; e-mail: sa_krasovsky@mail.ru (SPIN-code: 3385-6489; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9642-0947>)

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 (SPIN-код: 9339-9163; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2195-3025>)

Maria G. Krasnova, Postgraduate Student, Junior Researcher, Laboratory of Stem Cell Genetics, 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 (SPIN-code: 9339-9163; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2195-3025>)

Рассомахина Наталья Вадимовна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярного имиджинга Института биохимии имени А.Н.Баха Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии”» Российской академии наук; тел.: (495) 660-34-30; e-mail: n.rassomahina@fbras.ru (SPIN-код: 8544-2257; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5188-9255>)

Natalya V. Rassomahina, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Imaging, A.N.Bach Institute of Biochemistry, Federal State Institution “Federal Research Centre Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences; tel.: (495) 660-34-30; e-mail: n.rassomahina@fbras.ru (SPIN-code: 8544-2257; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5188-9255>)

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 (SPIN-код: 2092-5580; 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 (SPIN-code: 2092-5580; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0481-256X>)

Махнач Олег Владимирович – к. х. н., старший 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: buben6@yandex.ru (SPIN-код: 1453-9189; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2707-8313>)

Oleg V. Makhnach, Candidate of Chemistry, Senior 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: buben6@yandex.ru (SPIN-code: 1453-9189; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2707-8313>)

Гольдштейн Дмитрий Владимирович – 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: dvgoldm7@gmail.com (SPIN-код: 7714-9099; 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: dvgoldm7@gmail.com (SPIN-code: 7714-9099; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-1605>)

Кондратьева Елена Ивановна – д. м. н., профессор, руководитель научно-клинического отдела муковисцидоза, заведующая кафедрой генетики

болезней дыхательной системы Института высшего и дополнительного профессионального образования 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: elenafpk@mail.ru (SPIN-код: 9535-9331; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6395-0407>; Scopus ID: 35196167800; Web of Science Researcher ID: ABB-9783-2021)

Elena I. Kondratyeva, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Scientific and Clinical Department of Cystic Fibrosis, Head of the Department of Genetics of Diseases of the Respiratory System 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: elenafpk@mail.ru (SPIN-code 9535-9331; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6395-0407>; Scopus ID: 35196167800; Web of Science Researcher ID: ABB-9783-2021)

Участие авторов

Мокроусова Д.О. – проведение экспериментов на кишечных органоидах, количественный анализ результатов, написание рукописи

Ефремова А.С. – дизайн экспериментов с культурами органоидов, оценка полученных результатов, оформление рисунков, написание рукописи

Мельяновская Ю.Л. – дизайн экспериментов методом ОРКП, анализ полученных результатов, оформление рисунков, написание рукописи

Воронкова А.Ю. – описание клинической картины, сбор данных и их интерпретация, написание рукописи

Красовский С.А. – описание клинической картины, сбор данных и их интерпретация

Краснова М.Г. – проведение экспериментов на кишечных органоидах

Рассомахина Н.В. – проведение экспериментов на кишечных органоидах

Бухарова Т.Б. – интерпретация результатов, редактирование рукописи

Махнач О.В. – проведение экспериментов на кишечных органоидах, редактирование рукописи

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

Кондратьева Е.И. – описание клинической картины, сбор данных и их интерпретация, написание рукописи, общее руководство работой

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

Mokrousova D.O. – conducting the experiments on intestinal organoids, quantitative analysis of the results, writing the manuscript

Efremova A.S. – design of experiments with organoids, evaluation of the results, design of the figures, writing and editing the manuscript

Melyanovskaya Yu.L. – design of the experiments using the ICM method, analysis of the results, design of the figures, writing the manuscript

Voronkova A.Yu. – description of the clinical picture, data collection and interpretation, writing the manuscript

Krasovskiy S.A. – description of the clinical picture, data collection and interpretation

Krasnova M.G. – conducting the experiments on intestinal organoids

Rassomahina N.V. – conducting the experiments on intestinal organoids

Bukharova T.B. – interpretation of the results, editing the manuscript

Makhnach O.V. – conducting the experiments on intestinal organoids, editing the manuscript

Goldshtein D.V. – supervision at all stages of the work, editing the manuscript

Kondratyeva E.I. – description of the clinical picture, data collection and interpretation, writing of the manuscript, general supervision of the work

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.