


doi 10.18699/vjgb-25-31

Терапия муковисцидоза: от симптомов к причине заболевания

Т.Н. Киреева , Д.И. Жигалина , Н.А. Скрыбин 

Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

 tatyana.kireeva@medgenetics.ru

Аннотация. Муковисцидоз (МВ) – заболевание с широким клиническим и генетическим спектром проявлений, оказывающее значительное влияние на качество и продолжительность жизни пациента. В настоящее время диагностика МВ позволяет выявлять заболевание на самых ранних стадиях. Стремительное развитие науки и современные методы исследования изменили подходы в лечении МВ, начиная от симптоматического лечения до методов патогенетической терапии. Подходы патогенетической терапии направлены на поиск способов восстановления функции гена *CFTR*. Целью обзора стали анализ и обобщение имеющихся научных сведений о патогенетической терапии МВ. Рассмотрены подходы патогенетической терапии МВ на основе приема пациентами таргетных препаратов – *CFTR*-модуляторов. Приведены исследования с использованием методов генной терапии МВ, в основе которых лежит целенаправленная доставка нормальной копии кДНК гена *CFTR* в дыхательные пути с помощью вирусных или невирусных агентов. В некоторых исследованиях показано применение методов РНК-терапии для восстановления сплайсинга, продукции зрелой РНК и функционального белка *CFTR*. Также в обзоре проведен анализ литературных данных, в которых рассмотрены методы этиотропной терапии МВ, заключающейся в направленной коррекции гена *CFTR* с использованием искусственных ферментов рестрикции, системы CRISPR/Cas9 и комплекса пептидно-нуклеиновых кислот. В перспективном плане обсуждаются методы клеточной терапии в лечении поражения легких при муковисцидозе.

Ключевые слова: муковисцидоз (МВ); ген *CFTR*; мутации *CFTR*; модуляторы *CFTR*; генная терапия; геномное редактирование; CRISPR/Cas9


Для цитирования: Киреева Т.Н., Жигалина Д.И., Скрыбин Н.А. Терапия муковисцидоза: от симптомов к причине заболевания. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(2):279-289. doi 10.18699/vjgb-25-31

Благодарности. Авторы выражают глубокую признательность А.А. Агафоновой, заведующей отделением наследственных болезней, и В.В. Петровой, врачу-педиатру отделения наследственных болезней Медико-генетического центра (Генетической клиники) НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Р.Р. Савченко, научному сотруднику лаборатории геномики орфанных болезней НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, за консультативную помощь и рецензирование рукописи.

Cystic fibrosis therapy: from symptoms to the cause of the disease

T.N. Kireeva , D.I. Zhigalina , N.A. Skryabin 

Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

 tatyana.kireeva@medgenetics.ru

Abstract. Cystic fibrosis (CF) is a disease with a broad clinical and genetic spectrum of manifestations, significantly impacting the quality and duration of life of patients. At present, a diagnosis of CF enables the disease to be identified at the earliest stages of its development. The accelerated advancement of scientific knowledge and contemporary research techniques has transformed the methodology employed in the treatment of CF, encompassing a spectrum of approaches from symptomatic management to pathogenetic therapies. Pathogenetic therapy represents an approach to treatment that aims to identify methods of restoring the function of the *CFTR* gene. The objective of this review was to analyse and summarize the available scientific data on the pathogenetic therapy of CF. This paper considers various approaches to the pathogenetic therapy of CF that are based on the use of targeted drugs known as *CFTR* modulators. The article presents studies employing gene therapy techniques for CF, which are based on the targeted delivery of a normal copy of the *CFTR* gene cDNA to the respiratory tract via viral or non-viral vectors. Some studies have demonstrated the efficacy of RNA therapeutic interventions in restoring splicing, promoting the production of mature RNA, and increasing the functional expression of the *CFTR* protein. The review also analyzes literature data that consider methods of etiotropic therapy for CF, which consists of targeted correction of the *CFTR* gene using artificial restriction enzymes, the CRISPR/Cas9 system and a complex of peptide-nucleic acids. In a prospective plan, the use of cell therapy methods in the treatment of lung damage in CF is considered.

Key words: cystic fibrosis (CF); *CFTR*; *CFTR* mutations; *CFTR* modulators; gene therapy; genome editing; CRISPR/Cas9

For citation: Kireeva T.N., Zhigalina D.I., Skryabin N.A. Cystic fibrosis therapy: from symptoms to the cause of the disease. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov J Genet Breed*. 2025;29(2):279-289. doi 10.18699/vjgb-25-31

Введение

Муковисцидоз (МВ) (кистозный фиброз, cystic fibrosis) (ОМIM 219700) – моногенное орфанное заболевание, характеризующееся аутосомно-рецессивным типом наследования, системным поражением органов с тяжелым течением и прогнозом (<https://www.omim.org/>). Частота встречаемости МВ составляет в среднем один случай на 2500–3000 новорожденных (Каширская, Капранов, 2014). Наиболее часто МВ регистрируется среди европеоидов, например, в США и Европе числится около 70000 больных МВ, в России – около 4000 пациентов с данным заболеванием (Симонова и др., 2020; Ломунова, Гершович, 2023).

Причина МВ – патогенные варианты в гене муковисцидозного трансмембранного регулятора проводимости (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, *CFTR*), который был идентифицирован и клонирован в 1989 г. (Гембицкая и др., 2012; Elborn, 2016; Spielberg, Clancy, 2016). Ген *CFTR* содержит 27 экзонов, локализован в регионе 31.1 длинного плеча 7-й хромосомы (7q31.1). Белок, кодируемый этим геном, – трансмембранный регулятор проводимости (CFTR), является членом суперсемейства белков, относящихся к семейству АВС-транспортёров (ATP-binding cassette). Структурная организация белка CFTR включает в себя два трансмембранных домена (TMD1 и TMD2), два нуклеотидсвязывающих домена (NBD1 и NBD2) и центральный, внутриклеточный регуляторный домен (R-домен). Локализуясь на мембранах эпителиальных клеток, белок CFTR создает хлорный канал, регулируемый циклическим аденозинмонофосфатом (цАМФ). Посредством белка CFTR осуществляется не только регуляция ионов хлора (Cl⁻), но и секреция бикарбоната (HCO₃⁻), которая регулирует pH жидкости на поверхности клеток дыхательных путей. Также CFTR играет важную роль в гидратации секрета и муцинов посредством ингибирования эпителиального натриевого канала (ENaC) (Гинтер, 2000; Moran, 2014; Кондратьева и др., 2018; Bell et al., 2020; Hanssens et al., 2021).

Патогенные варианты в гене *CFTR* ведут к нарушению работы ионных каналов, вызывая снижение проводимости для ионов Cl⁻ и повышение проводимости для ионов Na⁺. Следствием этих нарушений являются изменение гидратационных процессов на мембранах эпителиальных клеток и изменение вязко-эластических свойств веществ, продуцируемых экзокринными железами. Данные изменения в большей степени влияют на работу органов дыхания, поджелудочной железы, печени, желчных путей, желудочно-кишечного тракта, потовых желез и органов мужской половой системы (Смирнихина, Лавров, 2018; Dechecchi et al., 2018; Ломунова, Гершович, 2023).

Генетические варианты в гене *CFTR*

Идентификацией и описанием генетических вариантов в гене *CFTR* занимается международный Консорциум генетического анализа МВ (Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium, CFCGAC), объединяющий лаборатории, деятельность которых направлена на генетическую диагностику и исследования МВ по всему миру. Для общего доступа полученные результаты помещаются в базу данных генетических вариантов в гене *CFTR* “CFTR1” ([\[www.genet.sickkids.on.ca/cftr/\]\(http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/\)\) и в созданную позднее базу “CFTR2” \(<http://www.cftr2.org/>\). База “CFTR2” включает актуальную информацию о недавно обнаруженных генетических вариантах в гене *CFTR* \(Rommens et al., 2006; Кондратьева и др., 2018; Dechecchi et al., 2018\). В настоящее время в базе данных CFCGAC представлено более 2000 генетических вариантов в гене *CFTR*, которые подразделяют на семь классов в зависимости от механизма их воздействия на функцию белка CFTR \(Fanen et al., 2014; Elborn, 2016; Кондратьева и др., 2018; Bell et al., 2020; Lee et al., 2021; Краснова и др., 2023\).](http://</p></div><div data-bbox=)

При генетических вариантах **класса I** (R553X, W1282X, 2143delT, G542X, 1677delTA) отсутствует функциональный белок CFTR в связи с нарушением его транскрипции и трансляции. Примерно 22 % пациентов с МВ имеют по крайней мере один мутантный аллель данного класса (Lee et al., 2021). Результатом генетических вариантов **класса II** (F508del, I507del, N1303K, S549N) является блокировка созревания белка CFTR вследствие неправильной конфигурации его молекулы. Неправильно свернутые молекулы белка не достигают апикальной мембраны клетки, так как подвергаются деградации, ассоциированной с эндоплазматическим ретикуломом (Endoplasmic reticulum-associated protein degradation, ERAD). Примерно у 88 % больных МВ имеется как минимум один мутантный аллель и основной вариант F508del, вызванный делецией аминокислоты фенилаланина в 508-м положении. При генетическом варианте F508del происходит нарушение посттрансляционной модификации белка CFTR, в результате чего молекула белка становится функционально неполноценной и нестабильной либо полностью разрушается (Van Goor et al., 2006; Смирнихина, Лавров, 2018).

В регуляторном домене белка CFTR и его нуклеотидсвязывающих доменах были выявлены генетические варианты **класса III** (G1224E, S1255P, G551D), вызывающие нарушения регуляции хлорного канала. Дефект работы хлорного канала в данном случае связан с тем, что белок CFTR синтезируется и транспортируется к клеточной мембране, но не отвечает на стимуляцию цАМФ. К снижению ионного потока в результате изменения проводимости хлорного канала приводят миссенс-мутации, относящиеся к **классу IV** генетических вариантов в гене *CFTR* (R117H, R347P, R334W). Эти варианты располагаются в трансмембранных доменах и влияют на сокращение времени открытия ионного канала. Примерно у 6 % пациентов с МВ имеется данный тип генетических вариантов. Генетические варианты в гене *CFTR* **класса V** снижают уровень функционального белка и его транспорт на поверхность апикальной мембраны, что характерно для 5 % пациентов с МВ. К **классу VI** относятся генетические варианты в гене *CFTR*, изменяющие стабильность белка, что снижает время нахождения белка на поверхности мембраны. Отмечено, что 5 % пациентов с МВ имеют по крайней мере один аллель этого варианта (Кондратьева и др., 2018; Dechecchi et al., 2018). Выделяют также **класс VII**, генетические варианты которого влияют на экспрессию мРНК белка CFTR. Отсутствие мРНК связано с генетическим вариантом, характеризующимся крупной делецией – CFTRdele2,3 (21 kb) (Lee et al., 2021).

Чтобы предупредить развитие тяжелых осложнений при МВ и в целом улучшить прогноз заболевания, очень важно своевременно начать терапию. Результаты фундаментальных исследований позволили расширить понимание основных патогенетических и патофизиологических механизмов МВ, что способствовало появлению и быстрому развитию новых подходов в лечении данного заболевания. В настоящее время основу лечения больных МВ представляет комплексная терапия, объединяющая методы как симптоматического, так и патогенетического лечения. В перспективе рассматриваются также методы, основанные на применении инструментов для коррекции гена *CFTR* (Гембицкая и др., 2012; Bell et al., 2020).

Симптоматическая терапия муковисцидоза

Симптоматическое лечение направлено на борьбу с инфекцией, улучшение отхождения слизи из бронхов и предотвращение недостаточности питания, включая дефицит макро- и микронутриентов. Пациентам с МВ назначают прием антибиотиков, муколитических и бронхолитических препаратов совместно с приемом ферментов, витаминов и курсом кинезиотерапии (Каширская, Капранов, 2014; Симонова и др., 2020). Для лечения поражений органов дыхания применяют противовоспалительную и массивную антибактериальную терапию, при этом высокой эффективностью обладает ингаляционный путь введения препаратов (муколитиков, бронхолитиков, антибиотиков и глюкокортикоидов) (Гембицкая и др., 2012; Oliveira et al., 2017; Кондратьева и др., 2018; Симонова и др., 2020).

Существенное влияние на течение МВ оказывают методы оптимизированной антибиотикотерапии, где выбор антибиотика зависит от микробиологического статуса больного. Преодоление антибиотикорезистентности осуществляется путем аэрозольной доставки антибиотиков в просвет бронхов, что также снижает побочные эффекты при длительном лечении и применении высоких доз, поскольку концентрация препаратов в сыворотке крови в данном случае невысокая (Горинова и др., 2015; Кондратьева и др., 2018; Симонова и др., 2020).

В терапии МВ для нормализации вязко-эластических свойств мокроты и улучшения ее транспорта назначают муколитические препараты. В этой группе большим преимуществом обладает генно-инженерный препарат – муколитик дорназа альфа, который комплексно действует на инфекцию, воспаление и обструкцию, наблюдаемые при МВ. Применение данного препарата имеет огромное значение в комплексном лечении бронхолегочного процесса у больных МВ, особенно сразу после установления диагноза (Шерман и др., 2011). Для эвакуации мокроты из дыхательных путей пациентам с МВ совместно с муколитическими препаратами назначают проведение специальной дыхательной гимнастики (кинезиотерапии) (Симонова и др., 2020).

Не менее важными в терапии МВ являются коррекция экзокринной панкреатической недостаточности и лечение гепатобилиарных нарушений, а также поддержание нутритивного статуса пациентов с помощью диетотерапии. У больных с панкреатической недостаточностью в дополнение к диетотерапии назначают ферментозаместительную терапию и прием жирорастворимых витаминов

(Каширская, Капранов, 2011, 2014; Кондратьева и др., 2018).

Все разработанные методы и применяемые препараты симптоматической терапии влияют не только на продолжительность, но и на качество жизни больных МВ, в значительной мере улучшая ее. Однако симптоматическая терапия направлена лишь на контроль симптомов и ограничение осложнений при МВ, при этом никак не влияя на работу дефектного белка *CFTR* (Смирнихина, Лавров, 2018; Симонова и др., 2020).

Патогенетическая терапия муковисцидоза

Актуальными становятся разработка и испытания новых методов и препаратов, которые направлены на поиск способов восстановления функции гена *CFTR*. В этом направлении перспективными считаются методы патогенетической терапии (Гембицкая и др., 2012; Rafieeq, Murad, 2017; Bell et al., 2020). С учетом многообразия генетических вариантов в гене *CFTR* и различных их клинических проявлений были проведены исследования по поиску препаратов-супрессоров преждевременной остановки трансляции белка для пациентов, имеющих нонсенс-мутации, относящиеся к классу I, препаратов для носителей часто встречающегося варианта F508del и других генетических вариантов класса II, а также препаратов, работающих при всех классах генетических вариантов (см. таблицу) (Кондратьева и др., 2018; Dechecchi et al., 2018).

В поиске препаратов, способствующих «прочитыванию» стоп-кодонов *CFTR*-mRNA и предотвращению преждевременной терминации синтеза молекулы белка, был предложен препарат аталурен (PTC Therapeutics, США), назначаемый для лечения миодистрофии Дюшенна, вызванной нонсенс-мутациями. Однако в группе больных с нонсенс-мутациями в гене *CFTR* данный препарат оказался неэффективен. В настоящее время для коррекции генетических вариантов в гене *CFTR* класса I препараты еще не разработаны (Kerem et al., 2014; Zainal Abidin et al., 2017; Смирнихина, Лавров, 2018).

Наиболее перспективным терапевтическим средством для лечения МВ оказалась группа модуляторов, представляющих собой низкомолекулярные препараты, которые были идентифицированы в результате высокопроизводительного скрининга для коррекции нарушенного транспорта белка *CFTR* на плазматическую мембрану или для увеличения проводимости хлорного канала (Dechecchi et al., 2018; Sui et al., 2022; Краснова и др., 2023). Выбор препарата-модулятора в терапии МВ зависит от класса генетического варианта в гене *CFTR* и направленности их компенсирующих действий, в связи с чем модуляторы подразделяются на потенциаторы, корректоры, усилители и стабилизаторы (Lee et al., 2021).

Потенциаторы

Действие потенциаторов направлено на усиление открытия ионного канала, образованного мутантным белком *CFTR*, на поверхности клетки. Воздействие на ионный канал осуществляется через активацию аденилатцикласного пути (генетические варианты гена *CFTR* классов III–IV). Одним из препаратов данной группы является ивакафтор (Vertex Pharmaceuticals, Германия). Первая фаза испыта-

Терапия муковисцидоза

Тип терапии	Метод	Препарат/комплекс/ комбинации	Эффективность, показанная в исследованиях
Патогенетическая терапия			
Фармакотерапия: прием препаратов – CFTR-модуляторов	Использование супрессоров преждевременной остановки трансляции CFTR	Аталурен	Неэффективен для пациентов с нонсенс- мутациями
	Использование потенциаторов работы ионного канала CFTR	Ивакафтор	Эффективен для пациентов с генетиче- ским вариантом G551D и пациентов с генотипом G461E/N1303K. Незначительный эффект для пациентов с генотипом F508del/F508del
	Использование корректоров фолдинга и процессинга CFTR	Лумакафтор	Частично восстанавливает функцию мутантного белка CFTR
	Использование комбинации «Потенциатор+корректор»	Ивакафтор/Лумакафтор Ивакафтор/Тезакафтор	Эффективен для пациентов с генотипом F508del/F508del
	Использование комбинации «Кор- ректор+корректор+потенциатор»	Элексакафтор/Тезакафтор/ Ивакафтор	Эффективен для пациентов как с одним, так и с двумя аллелями F508del
	Использование стабилизаторов CFTR на плазматической мембране	Кавосонат	Низкая эффективность по сравнению с потенциаторами
	Использование усилителей синтеза молекул CFTR	Несоликафтор	Эффективен при воспалительных процессах в дыхательных путях пациентов с несколькими генетическими вариантами гена <i>CFTR</i>
Генная терапия: целенаправленная доставка нормальной копии кДНК гена <i>CFTR</i> в дыхательные пути	Вирусный метод	Рекомбинантный адено- вирусный вектор (rAd)	Временная экспрессия <i>CFTR</i> , значительный иммунный ответ
		Хелперзависимый аденовирусный вектор (Hd-Ad)	Теряет эффективность <i>in vivo</i> , не вызывает иммунного ответа
		Аденоассоциированный вектор (AAV)	Неэффективен в трансдукции клеток человека
		Аденоассоциированный капсид AAV204	Эффективно восстанавливает работу хлорных каналов
		Spiro-2101: аденоассоциированный капсид, несущий функцио- нальную копию гена <i>CFTR</i>	Присвоен статус «орфанного лекарствен- ного препарата», предназначенного для терапии МВ
		Ретровирусные векторы	Низкая трансдуцирующая эффективность
	Лентивирусные векторы	Высокая трансдуцирующая эффективность	
Невирусный метод	рGM169/GL67A: комплекс кДНК/ катионный липид	Низкая эффективность в восстановлении функции легких	
РНК-терапия: восстановление сплайсинга и продукции зрелой РНК и функционального белка CFTR	Использование в качестве терапевтических агентов мРНК	Комплекс мРНК <i>CFTR</i> /липидные наночастицы (LNP)	Восстановление работы хлорных каналов и значительное увеличение количества белка CFTR на поверхности клеточной мембраны
	Использование в качестве терапевтических агентов коротких молекул РНК	Антисмысловые олигонуклеотиды (ACO)	Низкая эффективность для коррекции мРНК CFTR
		Eluforsen, QR-010: одноцепочечная антисмысловая РНК	Эффективен в улучшении работы хлорных каналов у пациентов с генотипом F508del/ F508del
Использование техники транс- сплайсинга, опосредованной сплайсосомами	SMaRT	Временное восстановление функции CFTR	

Окончание таблицы

Тип терапии	Метод	Препарат/комплекс/ комбинации	Эффективность, показанная в исследованиях
Этиотропная терапия			
Геномное редактирование: направленная коррекция гена <i>CFTR</i>	Использование искусственных ферментов рестрикции	Нуклеазы с цинковыми пальцами (ZFN)	Восстановление функции <i>CFTR</i> на терапевтически значимых уровнях в базальных клетках дыхательного эпителия
		Эфektorные нуклеазы, подобные активатору транскрипции (TALEN)	Эффективность редактирования в ИПСК от пациентов с МВ составила 10 %
	Использование программируемых нуклеаз CRISPR/Cas9	Cas9/направляющие РНК (sgRNA) и одноцепочечные олигонуклеотиды (ssODN)	Эффективность коррекции варианта F508del в клетках HEK293T составила от 0.08 до 0.7 % аллелей
	Использование пептидно-нуклеиновых кислот (PNA)	PNA/донорская ДНК/ биоразлагаемые полимерные наночастицы	Уровень коррекции <i>in vivo</i> генетического варианта F508del в эпителиальных клетках мышей от ~0.1 до ~2 %
Клеточная терапия			
Клеточная терапия: Восстановление поражений легких	Аутогенная трансплантация <i>CFTR</i> -экспрессирующих клеток в пораженные участки дыхательных путей	ИПСК, дифференцированные в <i>CFTR</i> -экспрессирующие клетки дыхательного эпителия	Нет данных

ний ивакафтора проводилась на здоровых добровольцах, где была показана безопасность препарата (Van Goor et al., 2009). Затем в 2011 г. по результатам испытаний на 112 больных МВ (США) были приведены данные о том, что у лиц с генетическими вариантами G551D, G178R, G551S, G1244E, G1349D установлено достоверное увеличение транспорта ионов хлора (Flume et al., 2012). В 2012 г. ивакафтор был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) для применения пациентами, имеющими хотя бы одну из 38 точковых мутаций, включая 5 мутаций сплайсинга (Van Goor et al., 2006, 2009; Смирнихина, Лавров, 2018). Для пациентов с генетическим вариантом G551D применение ивакафтора рекомендовано во всем мире, в том числе в России (Sui et al., 2022). В 2017 г. описан случай успешного лечения больного МВ с генотипом G461E/N1303K; через шесть месяцев применения ивакафтора клиническое течение болезни у пациента существенно изменилось (Амелина и др., 2017). В 2018 г. опубликованы данные по оценке эффективности ивакафтора в группе пациентов детского возраста (2–3 года), у которых отмечались более сохраненные функции легких и низкий уровень осложнений, наблюдаемых при МВ (Bessonova et al., 2018).

Корректоры

Корректоры – это фармакологические вещества, которые связываются с мутантным белком *CFTR*, способствуя его «созреванию» путем адаптации белкового гомеостаза и уменьшения деградации мутантного белка в системе внутриклеточного качественного контроля (генетические варианты гена *CFTR* класса II) (Смирнихина, Лавров, 2018). Среди группы препаратов-корректоров известно применение 4-фенилбутирата/генистина, куркумина, тезакафтора, лумакафтора. Наибольшее количество исследований по-

священо оценке и анализу эффективности лумакафтора в стабилизации мутантного белка *CFTR* и его перемещению из эндоплазматического ретикулума (ЭПР) на поверхность клеточной мембраны. При этом лумакафтор способен частично восстанавливать функцию мутантного белка *CFTR*, стабилизируя его N-концевой домен (Ren et al., 2013; Lee et al., 2021).

В дальнейшем для пациентов, гомозиготных по F508del, было показано, что применение только лумакафтора или ивакафтора лишь незначительно снижает уровень хлоридов в потовой пробе. Это свидетельствует о том, что монотерапия с использованием одного из модуляторов неэффективна в отношении улучшения функций легких (Flume et al., 2012; Hanssens et al., 2021). В связи с этим в дальнейшем была проведена оценка эффективности различных комбинаций модуляторов для восстановления работы белка *CFTR* у пациентов с генотипом F508del/F508del. Так, в ряде расширенных исследований для пациентов старше 12 лет, гомозиготных по F508del, эффективной оказалась длительная комбинированная терапия с совместным применением лумакафтора и ивакафтора (Boyle et al., 2014; Wainwright et al., 2015). Для российских пациентов в терапии МВ имеется практика применения комбинации лумакафтора и ивакафтора совместно с базисной терапией, в результате которой отмечается улучшение таких показателей, как снижение уровня хлоридов в потовой жидкости, прибавка по показателю объема форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1), улучшение общего состояния и прибавка в весе (Амелина и др., 2019).

Поскольку сочетание потенциатора и корректора положительно влияет на клинический эффект у пациентов с генетическим вариантом F508del, в 2015 г. FDA одобрила использование в терапии МВ комбинированного препарата лумакафтор/ивакафтор. Данный препарат разрешен к применению у детей старше 6 лет и взрослых с генотипом

F508del/F508del (Смирнихина, Лавров, 2018; Dechecchi et al., 2018; Симонова и др., 2020). Несмотря на показанную в клинических исследованиях эффективность, препарат имеет ряд побочных эффектов; также было отмечено, что положительное влияние препарата наблюдается лишь в случае одного генетического варианта F508del, находящегося в гомозиготном состоянии (Lee et al., 2021).

Положительный терапевтический эффект в отношении улучшения функций легких при лечении гомозиготных пациентов F508del-CFTR показала также комбинация ивакафтора с другим препаратом – тезакафтором. Комбинированный препарат тезакафтор+ивакафтор/ивакафтор применяют для лечения МВ у детей от 12 лет и взрослых с гомозиготной мутацией F508del (Taylor-Cousar et al., 2017).

По данным компании Vertex, наибольшая эффективность в лечении пациентов с генотипом F508del/F508del отмечена для комбинации трех модуляторов нового поколения: элексакафтор/тезакафтор/ивакафтор (elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor, ETI) (Смирнихина, Лавров, 2018). Данный комбинированный препарат повышает активность белка CFTR и снижает показатели смертности и заболеваемости у пациентов с МВ, применив как у больных МВ с гомозиготным генотипом F508del/F508del (в 90 % случаев), так и в группе больных, гетерозиготных по генетическому варианту F508del и варианту с резидуальной функцией (Keating et al., 2018). В клинических исследованиях было показано, что применение комбинации ETI улучшает функцию мутантного белка CFTR до уровней 40–50 % от нормальной активности белка CFTR в эпителиальных клетках дыхательных путей и кишечника. Также была показана высокая эффективность этой комбинации в отношении улучшения функций легких, снижения содержания хлоридов в поте, уменьшения частоты легочных обострений (Pichler et al., 2023).

Стабилизаторы и усилители

Для лечения пациентов с МВ необходимы такие соединения, как стабилизаторы и усилители белка CFTR. Стабилизаторы, фиксируя белок CFTR на плазматической мембране, тем самым препятствуют его отсоединению и деградации в лизосомах. Клиническое исследование эффективности одного из стабилизирующих белок соединения – кавосонстата, разработанного компанией Nivalis Therapeutics, проводилось на 138 пациентах, гомозиготных по F508del. Пациенты принимали кавосонстат совместно с ивакафтором. Однако на II фазе данное исследование было завершено в связи с отсутствием преимуществ стабилизатора по сравнению с потенциаторами (Красновидова и др., 2023).

Усилители используют для увеличения количества синтезированных молекул белка CFTR в клетках, доступного для последующей модуляции белково-активными малыми молекулами. Данная группа включает препарат несоликафтор, разработанный компанией Proteostasis Therapeutics. Несоликафтор представляет собой усилитель синтеза CFTR, который в комбинации с другими существующими методами лечения и терапии МВ показал положительное влияние на активность белка *in vitro*, почти в два раза увеличивая его активность в клетках бронхиального эпителия

пациентов с несколькими генетическими вариантами гена *CFTR*. Несоликафтор устраняет ингибирование, опосредованное цитокин-трансформирующим фактором роста бета 1 (TGF- β 1) скорректированной функции CFTR, при использовании с комбинацией ETI в первичных клетках бронхиального эпителия человека F508del CF, вероятно, за счет стабилизации мРНК. Несоликафтор косвенно увеличивает уровень секретируемых цитокинов за счет его воздействия на функцию апикальных ионных каналов. Была показана эффективность применения усилителей при воспалительных процессах в дыхательных путях пациентов с МВ (Bengtson et al., 2022).

Таким образом, рассмотренные фармакологические средства для патогенетической терапии МВ существенно увеличили продолжительность жизни пациентов с данным диагнозом. Однако препараты-модуляторы CFTR не устраняют причину заболевания, а лишь корректируют работу дефектного белка. При этом терапия модуляторами CFTR требует пожизненного приема лекарств, а их долгосрочные потенциальные побочные эффекты остаются неясными (Sui et al., 2022). Отмечается также, что примерно 10 % пациентов невосприимчивы к модуляторам из-за отсутствия или низкого уровня белка CFTR. По данным клинических исследований, около 10–20 % больных МВ обладают индивидуальной непереносимостью препаратов-модуляторов (Смирнихина, Лавров, 2018; Lee et al., 2021; Ломунова, Гершович, 2023). В связи с этим разрабатываются новые методы лечения МВ, направленные на устранение патологических изменений, лежащих в основе его развития. Прежде всего, это методы генной терапии (Maule et al., 2020).

Генная терапия муковисцидоза

Моногенный и рецессивный тип наследования при МВ обусловил появление способов лечения этого заболевания с применением методов генной терапии (см. таблицу) (Sui et al., 2022). Генная терапия при МВ заключается в целенаправленной доставке нормальной копии комплементарной ДНК (кДНК) гена *CFTR* в наиболее пораженные участки дыхательных путей больных с помощью вирусных частиц, несущих целевой трансген, и невирусных агентов, например липосом, наночастиц и др. (Гинтер, 2000; Смирнихина, Лавров, 2018; Ломунова, Гершович, 2023).

В 1993 г. было начато исследование по доставке нормальной копии кДНК *CFTR* в назальный эпителий пациентов с МВ с использованием рекомбинантного аденовирусного вектора (recombinant Adenoviral vector, rAd). Данная работа продемонстрировала перспективу рекомбинантных аденовирусных векторов для временной коррекции транспорта ионов Cl^- при МВ. Однако в дальнейшем было показано, что rAd-опосредованная экспрессия *CFTR* в постмитотических эпителиальных клетках дыхательных путей является временной и способствует сильным клеточным и гуморальным иммунным ответам (Van Goog et al., 2009). Чтобы исключить проблему иммунного ответа, в последующем был разработан хелперзависимый аденовирусный вектор (Helper-dependent Adenoviral vector, Hd-Ad). Hd-Ad доставляет ДНК (до 37 т. п. н.) в клетки дыхательных путей, исключая реакции Т-клеток хозяина на экспрессию чужеродного вирусного белка, т. е. не

вызывая воспаление (Lee et al., 2021). Восстановление функции CFTR до уровня, наблюдаемого в нормальных клетках дикого типа, было показано в исследовании на базальных клетках дыхательных путей мышей и свиней с МВ после коррекции CFTR с помощью Hd-Ad. Также Hd-Ad векторы были эффективны для коррекции гена CFTR в клетках легких мышей, нокаутных по данному гену. Однако из-за обновления клеток дыхательных путей применение Hd-Ad векторов для коррекции гена CFTR *in vivo* теряет свою терапевтическую эффективность (Koebler et al., 2003; Cao et al., 2020).

С 1998 по 2007 г. в клиниках под руководством Targeted Genetics Corporation оценивалась перспектива использования аденоассоциированных векторов (Adeno-Associated vector, AAV) в терапии заболеваний легких при МВ, среди которых гAAV2 был единственным доступным вектором данного серотипа. В доклинических исследованиях была показана способность гAAV2 продуктивно трансдуцировать клетки легких макак-резусов и кроликов. Однако более поздние работы по изучению биологии трансдукции гAAV2 на модели клеточной культуры поляризованного эпителия дыхательных путей человека (Human airway epithelium, HAE) на границе раздела дыхательных путей и жидкости (Air-liquid interface, ALI) показали, что гAAV2 плохо трансдуцирует эпителиальные клетки дыхательных путей человека. Другим ограничением использования векторов гAAV в переносе гена CFTR является их относительно небольшая емкость упаковки (~4.9 т. п. н.) (Sui et al., 2022).

В последние годы несколько фармацевтических компаний занимаются разработкой генно-терапевтических агентов на основе AAV. Так, компания Abeona Therapeutics разработала капсид нового поколения AAV204, заключающий в себе функциональную копию mini-CFTR гена человека. Применение в терапии данного агента позволяет эффективно восстанавливать в клетках, как *in vitro*, так и *in vivo*, работу хлорных каналов. В 2020 г. компания Spirovant Sciences представила еще один аденоассоциированный капсид с улучшенным тропизмом к клеткам эпителия дыхательных путей, применяемый для доставки функциональной копии гена CFTR. Препарат получил название Spiro-2101, а в дальнейшем FDA ему был присвоен статус «орфанного лекарственного препарата», предназначенного для терапии МВ (Lee et al., 2021; Ломунова, Гершович, 2023).

В генотерапии МВ также было показано использование векторов на основе ретро- и лентивирусов. Применение ретровирусов, несущих ген CFTR, в исследованиях на кроликах демонстрировало стойкую экспрессию данного гена в дыхательных путях этих животных в течение почти трех недель, однако они имели низкую трансдуцирующую эффективность (Lee et al., 2021). Преимуществом лентивирусных векторов, полученных из вирусов иммунодефицита, является их способность трансдуцировать как делящиеся, так и неделящиеся клетки, а экспрессия трансгена из интегрированного вирусного генома, вероятно, сохраняется на протяжении всего жизненного цикла клеток-реципиентов. При этом лентивирусные векторы, используемые для трансдукции в эпителиальные клетки дыхательных путей, необходимо псевдотипировать соот-

ветствующими белковыми оболочками. В исследованиях была показана более высокая эффективность трансдукции в клетки дыхательного эпителия с использованием лентивирусной стратегии по сравнению с невирусной (Alton et al., 2015; Sui et al., 2022). Несмотря на это, более безопасными и хорошо переносимыми все же являются невирусные методы доставки нормального гена CFTR в связи с отсутствием возникновения инсерционного мутагенеза и вторичного воздействия измененных уровней экспрессии трансгена (Lee et al., 2021).

Еще одно преимущество невирусных векторов – применение более крупных фрагментов донорской ДНК для репарации генов. Для эффективности невирусной доставки CFTR используется комплекс кДНК/катионный липид. Так, по данным исследования, опубликованном Британским консорциумом генной терапии МВ, в клетках легких пациентов с МВ регистрировалось увеличение функции CFTR до 3.7 % после применения распыляемого катионного липида rGM169/GL67A, доставляющего донорскую ДНК нормального гена CFTR. Однако такого улучшения было все еще недостаточно для восстановления функции легких при МВ (Alton et al., 2015; Spielberg, Clancy, 2016).

Таким образом, уже почти три десятилетия идет поиск подходящих методов генной терапии, применяемых для лечения МВ. Известно около 36 клинических испытаний генной терапии с участием значительного количества пациентов с МВ, однако из-за низкого клинического эффекта исследования не получили дальнейшего развития. Тем не менее эти попытки показали перспективность концепции генной терапии МВ и создали большой фундамент в данной области (Sui et al., 2022).

Редактирование гена CFTR

В дальнейшем благодаря появлению и совершенствованию экспериментальных клеточных и животных моделей особое значение приобрели новые подходы в направленной коррекции генов. К одним из таких эффективных методов относятся методы редактирования генома (см. таблицу).

Для коррекции генов применяют инструменты на основе целевого расщепления ДНК с использованием искусственных ферментов рестрикции: нуклеаз с «цинковыми пальцами» (Zinc-finger nucleases, ZFN) и эффекторных нуклеаз, подобных активатору транскрипции (Transcription activator-like effector nucleases, TALEN), программируемой нуклеазы (чаще всего это Cas9), специфичность действия которой достигается при помощи направляющей РНК (sgRNA). Далее репарация ДНК осуществляется благодаря функционирующим в клетке механизмам: негомологичному соединению концов (non-homologous end joining, NHEJ) или направленной гомологичной репарации (homology-directed repair, HDR), распространенной формой которой является гомологичная рекомбинация (homologous recombination, HR) (Смирнихина и др., 2020; Lee et al., 2021).

На основе ZFN была проведена оценка возможности редактирования локуса CFTR в базальных клетках дыхательных путей, полученных от пациентов с МВ, с использованием двух подходов. В первом подходе, основанном на замене последовательности для коррекции F508del,

продемонстрировано восстановление зрелого белка CFTR и его функции в культурах на границе ALI, полученных из массово отредактированных базальных клеток. Второй подход был направлен на интеграцию частичной кДНК в интрон эндогенного гена *CFTR* для коррекции всех генетических вариантов *CFTR*. В результате отмечена высокоэффективная сайт-специфическая целевая интеграция в базальные клетки, несущие различные генетические варианты гена *CFTR*, и показано восстановление функции CFTR на терапевтически значимых уровнях (Suzuki et al., 2020). Данные в экспериментах на основе TALEN показывают лучшую аффинность по сравнению с ZFN. В одном из исследований для доставки в клетки TALEN с донорской ДНК были выбраны Hd-Ad векторы, в результате чего достигнуто около 5 % целевой интеграции генов. В индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (ИПСК) от пациентов с МВ эффективность TALEN-опосредованного редактирования F508del составляет не больше 10 %. При этом было отмечено, что манипуляции с геномом ИПСК не повлияли на их свойства и способность к дифференциации (Holkers et al., 2013; Xia et al., 2019).

Редактирование генома с использованием системы CRISPR/Cas9 (Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR associated protein 9) позволяет «скорректировать» патогенетический вариант в гене с высокой эффективностью и закрепить «скорректированный» аллель в геноме. В связи с этим CRISPR/Cas9 является очень многообещающей технологией для создания ценных экспериментальных инструментов для тестирования методов лечения широкого спектра патогенетических вариантов, вызывающих МВ (Смирнихина, Лавров, 2018). Впервые система редактирования CRISPR/Cas9 для коррекции локуса гена *CFTR* была применена в культивируемых стволовых клетках кишечника пациентов, гомозиготных по F508del. Генетически скорректированные стволовые клетки образовывали органоиды, которые функционально реагировали на форсколин в виде изменения в объеме. В другом исследовании были получены ИПСК из клеток фибробластов кожи пациентов с МВ (F508del), в которых также в дальнейшем провели коррекцию гена *CFTR* с помощью системы CRISPR/Cas9. Скорректированные ИПСК были способны дифференцироваться в зрелые эпителиальные клетки дыхательных путей и демонстрировали восстановление транспорта хлоридов (Wang, 2023).

С использованием нуклеаз Cas9 было создано множество клеточных линий, представляющих собой альтернативные модели для разработки методов редактирования генетических вариантов в гене *CFTR*. Данные модели – это клеточные культуры, в которые были внесены плазмиды, несущие синтетические векторы с фрагментом гена *CFTR*, содержащим таргетную мутацию, в том числе и редко встречающуюся. На основе этого подхода были созданы клеточные линии: рака легких человека (Calu-3 CF), лейкемии человека (HL-60 F508del-CF), карциномы человека (16HBE14o-CF с F508del), а также изогенные клеточные модели с мутациями G542X, W1282X (Wang, 2023). В одном из исследований продемонстрирована возможность моделирования МВ в клеточной культуре HEK293T

путем внесения синтетической плазмиды pGEM-CFTR, несущей локус *CFTR* с генетическим вариантом F508del. Далее проводили оценку эффективности коррекции данного генетического варианта с использованием шести различных комбинаций Cas9/направляющих РНК (sgRNA) и одноцепочечных олигонуклеотидов (ssODN). В зависимости от комбинации компонентов CRISPR/Cas9 эффективность коррекции варианта F508del составила от 0.08 до 0.7 % аллелей (Смирнихина и др., 2020).

В дополнение к рассмотренным редакторным системам была показана возможность коррекции гена *CFTR* с помощью пептидно-нуклеиновых кислот (peptide nucleic acid, PNA), не основанная на CRISPR. В исследованиях на эпителиальных клетках дыхательных путей с F508del были использованы триплекс-образующие пептидно-нуклеиновые кислоты и донорская ДНК, упакованные в биоразлагаемые полимерные наночастицы. В результатах показано, что интраназальная доставка наночастиц мышам с МВ вызывает изменения в анализе разности потенциалов назального эпителия как следствие скорректированной функции CFTR. В другом исследовании с использованием системной доставки PNA была показана коррекция *in vivo* генетического варианта F508del во многих эпителиальных клетках, включая носовой эпителий, трахею, легкие, подвздошную кишку, толстую и прямую кишку у мышей с МВ. Уровень коррекции варьировал от ~0.1 до ~2 % (Wang, 2023).

Рассмотренные подходы в направленной коррекции гена *CFTR* нацелены на причины, лежащие в основе заболевания, т. е. имеют возможность обеспечить постоянное излечение пациентов с МВ. Несмотря на это существующее преимущество, в настоящее время данные подходы не используются в клинической практике в связи с биоэтическими ограничениями.

Методы РНК-терапии муковисцидоза

В терапии МВ рассматривается применение методов, основанных на использовании в качестве терапевтических агентов РНК: информационной РНК (мРНК) и более мелких молекул РНК – олигонуклеотидов (см. таблицу). В настоящее время проводятся клинические испытания, исследующие потенциал мРНК в терапии МВ. Одним из таких исследований является RESTORE-CF (NCT03375047), в котором изучаются специализированные липидные наночастицы (lipid nanoparticles, LNP) в качестве переносчиков мРНК. Показателями результата служат изменения функции легких, т. е. изменения ОФВ1. Также было отмечено восстановление работы хлорных каналов и значительное увеличение количества белка CFTR на поверхности клеточной мембраны дыхательного эпителия пациентов с МВ после введения в клетки химически модифицированной мРНК *CFTR* с помощью релевантных липосомных наночастиц (Ломунова, Гершович, 2023).

С целью восстановления сплайсинга и продукции зрелой РНК и функционального белка CFTR применяли короткие молекулы РНК – антисмысловые олигонуклеотиды (ACO) (Egan, 2021). Было проведено более 40 клинических испытаний, изучающих терапевтический потенциал ACO в лечении МВ. В клеточных моделях с генетическим вариантом F508del с помощью ACO осуществля-

лась вставка недостающих оснований в положение 508 *CFTR* на уровне транскриптов РНК, однако коррекция мРНК таким способом оказалась нестабильна (Maule et al., 2020). Компания ProQR Therapeutics провела исследования по интраназальному введению одноцепочечной антисмысловой РНК (eluforsen, QR-010) мышам. Данный препарат был разработан для восстановления функции *CFTR* в дыхательном эпителии через специфическое связывание с областью F508del в мРНК. Было показано, что QR-010 успешно диффундирует в клетки и вызывает положительные изменения в транспорте хлоридов. Так, после трех интраназальных введений QR-010 в течение четырех недель у пациентов с генотипом F508del/F508del зафиксировано клинически значимое улучшение функционирования хлорного канала вследствие восстановления функции *CFTR* (Ломунова, Гершович, 2023).

Для восстановления формирующейся мРНК путем замены части измененного транскрипта правильной экзогенной мРНК была использована также техника трансплайсинга, опосредованная сплайсосомами (spliceosome-mediated RNA trans-splicing, SMaRT). Данная техника применялась на клеточных моделях с генетическим вариантом F508del для восстановления правильных транскриптов, при этом восстановление функции *CFTR* было временным (Maule et al., 2020).

Методы РНК-терапии считаются возможными для лечения пациентов с МВ, однако такое лечение требует пожизненного введения терапевтических агентов, как и терапия модуляторами *CFTR*.

Клеточная терапия муковисцидоза

В перспективе рассматривается использование методов клеточной терапии в лечении поражения легких при МВ (см. таблицу). Существенные затруднения при этом вызывает поиск способов доставки донорских клеток в легкие человека.

Возможность доставки клеток в легкие была показана в экспериментах на мышах. В легкие мышей эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) заселяли путем внутривенного введения, клетки костного мозга (КМ) – путем интратрахеального введения. В результате в обоих случаях эффективность была низкая (Lee et al., 2021). Проведено несколько исследований по введению мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) в пораженные легкие мышей, в которых показано, что введение интактных ММСК в организм активирует противовоспалительный иммунитет у животных при разных формах воспаления легких (Смирнихина, Лавров, 2018). В Стэнфордском университете было проведено исследование, в котором в первичных базальных клетках дыхательных путей мутантный ген *CFTR* был отредактирован системой CRISPR/Cas9, доставленной в эти клетки с помощью AAV векторов. Затем скорректированные базальные клетки были помещены в полости носовых пазух крысы, где в дальнейшем оценивалась возможность данных клеток пролиферировать в клетки с нормальным *CFTR* (Egan, 2021).

К настоящему времени уже разработаны протоколы дифференцировки ИПСК в *CFTR*-экспрессирующие клетки дыхательного эпителия, что позволяет считать ИПСК

перспективным материалом для аутогенной трансплантации при поражениях легких. На данный момент клинические испытания с использованием ИПСК в рамках клеточной терапии для пациентов с МВ не проводятся (Ломунова, Гершович, 2023).

Заключение

Конечная цель исследований по поиску и разработке методов лечения МВ – предоставить всем пациентам терапию в достаточно раннем возрасте, чтобы задержать или даже предотвратить многие проявления заболевания, а также персонализировать саму терапию в целом в зависимости от потребностей пациентов.

Персонализированный подход в терапии больных МВ получил свое развитие в 2012 г., с появлением ряда таргетных препаратов. Некоторые препараты уже прошли клинические испытания и используются в терапии, к таким препаратам относятся модуляторы *CFTR* первого поколения: ивакафтор, лумакафтор/ивакафтор, тезакафтор+ивакафтор/ивакафтор, элексакафтор/тезакафтор/ивакафтор и ивакафтор. Использование модуляторов позволило восстановить функции мутантного белка *CFTR*, улучшить работу хлорных каналов на поверхности клеток. При всем этом модуляторная терапия не является излечивающей и охватывает не все генетические варианты в гене *CFTR*. Для 10 % пациентов с МВ, имеющих миссенс-мутации, в клетках которых практически не производится белок *CFTR*, терапия модуляторами *CFTR* не подходит, в связи с чем большое значение приобретают исследования в области генной терапии МВ, включая методы геномного редактирования.

Преимущество генной терапии заключается в том, что она подходит для всех пациентов с МВ, независимо от их генотипа. В области генной терапии МВ были инициированы крупные исследовательские программы, в ходе которых разработаны потенциальные агенты для данного вида терапии, и было выполнено множество клинических испытаний по доставке нормального гена *CFTR* в клетки дыхательного эпителия. Однако долгий путь к использованию генной терапии как метода лечения МВ не привел к значительной постоянной клинической эффективности, даже несмотря на то, что, возможно, имелся некоторый уровень коррекции. С ориентиром на перспективу рассмотрены работы по геномному редактированию гена *CFTR* при МВ с использованием таких инструментов, как CRISPR/Cas9, ZFN, TALEN и пептидно-нуклеиновые кислоты. Исследования по геномному редактированию при МВ находятся в доклинической фазе.

Таким образом, благодаря огромному количеству исследований патогенеза МВ и разработок с использованием инновационных генно-направленных персонализированных методов лечения, пациенты с данным заболеванием получили возможность значительного увеличения продолжительности жизни наряду с улучшением ее качества.

Список литературы / References

Амелина Е.Л., Красовский С.А., Усачева М.В., Крылова Н.А. Патогенетическое лечение муковисцидоза: первый клинический случай в России. *Пульмонология*. 2017;27(2):298-301. doi 10.18093/0869-0189-2017-27-2-298-301

- [Amelina E.L., Krasovskiy S.A., Usacheva M.V., Krylova N.A. Pathogenic treatment of cystic fibrosis: the first clinical case in Russia. *Pulmonologiya = Russian Pulmonology*. 2017;27(2):298-301. doi 10.18093/0869-0189-2017-27-2-298-301 (in Russian)]
- Амелина Е.Л., Красовский С.А., Шумкова Г.Л., Крылова Н.А. Таргетная терапия муковисцидоза при генотипе F508del/F508del. *Пульмонология*. 2019;29(2):235-238. doi 10.18093/0869-0189-2019-29-2-235-238
- [Amelina E.L., Krasovskiy S.A., Shumkova G.L., Krylova N.A. Targeted therapy for CF patients with F508del/F508del genotype. *Pulmonologiya = Russian Pulmonology*. 2019;29(2):235-238. doi 10.18093/0869-0189-2019-29-2-235-238 (in Russian)]
- Гембицкая Т.Е., Черменский А.Г., Бойцова Е.П. Муковисцидоз сегодня: достижения и проблемы, перспективы этиопатогенетической терапии. *Врач*. 2012;2:5-8
- [Gembitskaya T.E., Chermenskiy A.G., Boytsova E.P. Cystic fibrosis today: progress and problems, promises of etiopathogenetic therapy. *Vrach = The Doctor*. 2012;2:5-8 (in Russian)]
- Гинтер Е.К. Генотерапия наследственных болезней. *Вопросы медицинской химии*. 2000;46(3):264-278
- [Ginter E.K. Gene therapy of hereditary diseases. *Voprosy Meditsinskoi Khimii*. 2000;46(3):264-278 (in Russian)]
- Горина Ю.В., Симонова О.И., Лазарева А.В., Черневич В.П., Смирнов И.Е. Опыт длительного применения ингаляций раствора тобрамицина при хронической синегнойной инфекции у детей с муковисцидозом. *Российский педиатрический журнал*. 2015;18(3):50-53
- [Gorinova Yu.V., Simonova O.I., Lazareva A.V., Chernevich V.P., Smirnov I.E. Experience of the sustainable use of inhalations of tobramycin solution in chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in children with cystic fibrosis. *Rossiiskij Pediatricheskij Zhurnal = Russ Pediatr J*. 2015;18(3):50-53 (in Russian)]
- Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Опыт терапии экзокринной недостаточности поджелудочной железы при муковисцидозе в России. *Русский медицинский журнал*. 2011;19(7):476-484
- [Kashirskaya N.Yu., Kapranov N.I. Experience in the treatment of exocrine pancreatic insufficiency in cystic fibrosis in Russia. *Russ Med J*. 2011;19(7):476-484 (in Russian)]
- Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. Современные фармакотерапевтические подходы к лечению муковисцидоза. *Фарматека*. 2014;3(276):38-43
- [Kashirskaya N.Yu., Kapranov N.I. Modern pharmacotherapeutic approaches to the treatment of cystic fibrosis. *Farmateka*. 2014;3(276):38-43 (in Russian)]
- Кондратьева Е.И., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И. (ред.) Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия. М.: Компания БОРГЕС, 2018
- [Kondratieva E.I., Kashirskaya N.Yu., Kapranov N.I. (Eds.) Cystic Fibrosis: Definition, Diagnostic Criteria, Therapy. Moscow: BORGES Company Publ., 2018 (in Russian)]
- Краснова М.Г., Мельяновская Ю.Л., Красовский С.А., Булатенко Н.В., Ефремова А.С., Бухарова Т.Б., Гольдштейн Д.В. Описание клинической картины и оценка функциональной активности канала CFTR у пациента с комплексным аллелем [S466X; R1070Q]. *Пульмонология*. 2023;33(2):233-242. doi 10.18093/0869-0189-2023-33-2-233-242
- [Krasnova M.G., Melianovskaya Y.L., Krasovskiy S.A., Bulatenko N.V., Efremova A.S., Bukharova T.B., Goldshtein D.V. Description of the clinical picture and assessment of functional activity of the CFTR channel in a patient with a complex allele [S466X; R1070Q]. *Pulmonologiya = Russ Pulmonology J*. 2023;33(2):233-242. doi 10.18093/0869-0189-2023-33-2-233-242 (in Russian)]
- Красновидова А.Е., Симонова О.И., Черневич В.П., Пахомов А.В., Рейх А.П., Пушков А.А. Клинико-генетические параллели у сибсов с муковисцидозом. *Российский педиатрический журнал*. 2023;26(3):159-167. doi 10.46563/1560-9561-2023-26-3-159-167
- [Krasnovidova A.E., Simonova O.I., Chernevich V.P., Pakhomov A.V., Reykh A.P., Pushkov A.A. Genotype-phenotype correlation in siblings with cystic fibrosis. *Rossiiskij Pediatricheskij Zhurnal = Russ Pediatr J*. 2023;26(3):159-167. doi 10.46563/1560-9561-2023-26-3-159-167 (in Russian)]
- Ломунова М.А., Гершович П.М. Генная терапия муковисцидоза: достижения и перспективы. *Acta Naturae*. 2023;15(2):20-31. doi 10.32607/actanaturae.11708
- [Lomunova M.A., Gershovich P.M. Gene therapy for fibrosis: recent advances and future prospects. *Acta Naturae*. 2023;15(2):20-31. doi 10.32607/actanaturae.11708]
- Симонова О.И., Горина Ю.В., Черневич В.П. Муковисцидоз: прорыв в терапии XXI века. *Российский педиатрический журнал*. 2020;23(1):35-41. doi 10.18821/1560-9561-2020-23-1-35-41
- [Simonova O.I., Gorinova Yu.V., Chernevich V.P. Cystic fibrosis: a breakthrough in 21st-century therapy. *Rossiiskij Pediatricheskij Zhurnal = Russ Pediatr J*. 2020;23(1):35-41. doi 10.18821/1560-9561-2020-23-1-35-41 (in Russian)]
- Смирнихина С.А., Лавров А.В. Современное патогенетическое лечение и разработка новых методов генной и клеточной терапии муковисцидоза. *Гены и клетки*. 2018;13(3):23-31. doi 10.23868/201811029
- [Smirnikhina S.A., Lavrov V.A. Modern pathogenesis-based methods and development of new gene and cell-based methods for cystic fibrosis treatment. *Genes Cells*. 2018;13(3):23-31. doi 10.23868/201811029 (in Russian)]
- Смирнихина С.А., Кондратьева Е.В., Анучина А.А., Зайнитдинова М.И., Лавров А.В. Моделирование муковисцидоза в клеточной культуре HEK293T и разработка коррекции мутации F508del. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2020;15(2):158-162. doi 10.14300/mnnc.2020.15038
- [Smirnikhina S.A., Kondratyeva E.V., Anuchina A.A., Zaynitdinova M.I., Lavrov A.V. Modeling of cystic fibrosis in HEK293T cell culture and development of a method for the correction of F508del mutation. *Medicinskij Vestnik Severnogo Kavkaza = Medical News of North Caucasus*. 2020;15(2):158-162. doi 10.14300/mnnc.2020.15038 (in Russian)]
- Шерман В.Д., Капранов Н.И., Каширская Н.Ю. Дорназа альфа (Пульмозим) в комплексном лечении бронхолегочного процесса у больных муковисцидозом. *Фарматека*. 2011;11(224):42-45
- [Sherman V.D., Kapranov N.I., Kashirskaya N.Yu. Dornase alpha (Pulmozyme) for the complex treatment of bronchopulmonary process in cystic fibrosis patients. *Farmateka*. 2011;11(224):42-45 (in Russian)]
- Alton E.W.F.W., Armstrong D.K., Ashby D., Bayfield K.J., Bilton D., Bloomfield E.V., Boyd A.C., ... Waller M.D., Wasowicz M.Y., Wilson J.M., Wolstenholme-Hogg P., UK Cystic Fibrosis Gene Therapy Consortium. Repeated nebulisation of non-viral CFTR gene therapy in patients with cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2b trial. *Lancet Respir Med*. 2015;3(9):684-691. doi 10.1016/S2213-2600(15)00245-3
- Bell S.C., Mall M.A., Gutierrez H., Macek M., Madge S., Davies J.C., Burgel P.R., ... Southern K.W., Sivam S., Stephenson A.L., Zampoli M., Ratjen F. The future of cystic fibrosis care: a global perspective. *Lancet Respir Med*. 2020;8(1):65-124. doi 10.1016/S2213-2600(19)30337-6
- Bengtson C., Silswal N., Baumlin N., Yoshida M., Dennis J., Yerrathota S., Kim M., Salathe M. The CFTR amplifier nesolicaftor rescues TGF- β 1 inhibition of modulator-corrected F508del CFTR function. *Int J Mol Sci*. 2022;23(18):10956. doi 10.3390/ijms231810956
- Bessonova L., Volkova N., Higgins M., Bengtsson L., Tian S., Simard C., Konstan M.W., Sawicki G.S., Sewall A., Nyangoma S., Elbert A., Marshall B.C., Bilton D. Data from the US and UK cystic fibrosis registries support disease modification by CFTR modulation with ivacaftor. *Thorax*. 2018;73(8):731-740. doi 10.1136/thoraxjnl-2017-210394
- Boyle M.P., Bell S.C., Konstan M.W., McColley S.A., Rowe S.M., Rietschel E., Huang X., Waltz D., Patel N.R., Rodman D.; VX09-809-102 study group. A CFTR corrector (lumacaftor) and a CFTR potentiator (ivacaftor) for treatment of patients with cystic fibrosis who have a phe508del CFTR mutation: a phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Respir Med*. 2014;2(7):527-538. doi 10.1016/S2213-2600(14)70132-8

- Cao H., Ouyang H., Laselva O., Bartlett C., Zhou Z.P., Duan C., Gunawardena T., Avolio J., Bear C.E., Gonska T., Hu J., Moraes T.J. A helper-dependent adenoviral vector rescues CFTR to wild-type functional levels in cystic fibrosis epithelial cells harbouring class I mutations. *Eur Respir J.* 2020;56(5):2000205. doi 10.1183/13993003.00205-2020
- Dechecchi M.C., Tamanini A., Cabrini G. Molecular basis of cystic fibrosis: from bench to bedside. *Ann Transl Med.* 2018;6(17):334. doi 10.21037/atm.2018.06.48
- Egan M.E. Emerging technologies for cystic fibrosis transmembrane conductance regulator restoration in all people with CF. *Pediatr Pulmonol.* 2021;56(1):32-39. doi 10.1002/ppul.2496
- Elborn J.S. Cystic fibrosis. *Lancet.* 2016;388(10059):2519-2531. doi 10.1016/S0140-6736(16)00576-6
- Fanen P., Wohlhuter-Haddad A., Hinzpeter A. Genetics of cystic fibrosis: CFTR mutation classifications toward genotype-based CF therapies. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;52:94-102. doi 10.1016/j.biocel.2014.02.023
- Flume P.A., Liou T.G., Borowitz D.S., Li H., Yen K., Ordoñez C.L., Geller D.E.; 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
- Hanssens L.S., Duchateau J., Casimir G.J. CFTR protein: not just a chloride channel? *Cells.* 2021;10(11):2844. doi 10.3390/cells10112844
- Holkers M., Maggio I., Liu J., Janssen J.M., Miselli F., Mussolino C., Recchia A., Cathomen T., Gonçalves M.A. Differential integrity of TALE nuclease genes following adenoviral and lentiviral vector gene transfer into human cells. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(5):e63. doi 10.1093/nar/gks1446
- Keating D., Marigowda G., Burr L., Daines C., Mall M.A., McKone E.F., Ramsey B.W., Rowe S.M., Sass L.A., Tullis E., McKee C.M., Moskowitz S.M., Robertson S., Savage J., Simard C., Van Goor F., Waltz D., Xuan F., Young T., Taylor-Cousar J.L.; VX16-445-001 Study Group. VX-445 – Tezacaftor-ivacaftor in patients with cystic fibrosis and one or two Phe508del alleles. *N Engl J Med.* 2018;379(17):1612-1620. doi 10.1056/NEJMoa1807120
- Kerem E., Konstan M.W., De Boeck K., Accurso F.J., Sermet-Gaudelus I., Wilschanski M., Elborn J.S., Melotti P., Bronsveld I., Fajac I., Malfroot A., Rosenbluth D.B., Walker P.A., McColley S.A., Knoop C., Quattrucci S., Rietschel E., Zeitlin P.L., Barth J., Elfiring G.L., Welch E.M., Branstrom A., Spiegel R.J., Peltz S.W., Ajayi T., Rowe S.M.; Cystic Fibrosis Ataluren Study Group. Ataluren for the treatment of nonsense-mutation cystic fibrosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2014;2(7):539-547. doi 10.1016/S2213-2600(14)70100-6
- Koehler D.R., Sajjan U., Chow Y.H., Martin B., Kent G., Tanswell A.K., McKerlie C., Forstner J.F., Hu J. Protection of *Cftr* knockout mice from acute lung infection by a helper-dependent adenoviral vector expressing *Cftr* in airway epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100(26):15364-15369. doi 10.1073/pnas.2436478100
- Lee J.A., Cho A., Huang E.N., Xu Y., Quach H., Hu J., Wong A.P. Gene therapy for cystic fibrosis: new tools for precision medicine. *J Transl Med.* 2021;19(1):452. doi 10.1186/s12967-021-03099-4
- Maule G., Arosio D., Cereseto A. Gene therapy for cystic fibrosis: progress and challenges of genome editing. *Int J Mol Sci.* 2020;21(11):3903. doi 10.3390/ijms21113903
- Moran O. On the structural organization of the intracellular domains of CFTR. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;52:7-14. doi 10.1016/j.biocel.2014.01.024
- Olveira C., Padilla A., Dorado A., Contreras V., Garcia-Fuentes E., Rubio-Martin E., Porras N., Doña E., Carmona A., Olveira G. Inflammation and oxidation biomarkers in patients with cystic fibrosis: the influence of azithromycin. *Eurasian J Med.* 2017;49(2):118-123. doi 10.5152/eurasianjmed.2017.17010
- OMIM.org [Internet]. Online Mendelian Inheritance in Man®. [cited 2023 Aug 28]. Available from: <https://www.omim.org/>
- Piehler L., Thalemann R., Lehmann C., Thee S., Röhm J., Syunyaeva Z., Stahl M., Mall M.A., Graeber S.Y. Effects of elxacaftor/tezacaftor/ivacaftor therapy on mental health of patients with cystic fibrosis. *Front Pharmacol.* 2023;14:1179208. doi 10.3389/fphar.2023.1179208
- Rafeeq M.M., Murad H.A.S. Cystic fibrosis: current therapeutic targets and future approaches. *J Transl Med.* 2017;15(1):84-92. doi 10.1186/s12967-017-1193-9
- Ren H.Y., Grove D.E., De La Rosa O., Houck S.A., Sopha P., Van Goor F., Hoffman B.J., Cyr D.M. VX-809 corrects folding defects in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein through action on membrane-spanning domain 1. *Mol Biol Cell.* 2013;24(19):3016-3024. doi 10.1091/mbc.E13-05-0240
- Rommens J.M., Iannuzzi M.C., Kerem B., Drumm M.L., Melmer G., Dean M., Rozmahel R., Cole J.L., Kennedy D., Hidaka N., Zsiga M., Buchwald M., Tsui L.-C., Riordan J.R., Collins F.S. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science.* 2006;245(4922):1059-1065. doi 10.1126/science.2772657
- Spielberg D.R., Clancy J.P. Cystic fibrosis and its management through established and emerging therapies. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2016;17:155-175. doi 10.1146/annurev-genom-090314-050024
- Sui H., Xu X., Su Y., Gong Z., Yao M., Liu X., Zhang T., Jiang Z., Bai T., Wang J., Zhang J., Xu C., Luo M. Gene therapy for cystic fibrosis: challenges and prospects. *Front Pharmacol.* 2022;13:1015926. doi 10.3389/fphar.2022.1015926
- Suzuki S., Crane A.M., Anirudhan V., Barillà C., Matthias N., Randell S.H., Rab A., Sorscher E.J., Kerschner J.L., Yin S., Harris A., Mendel M., Kim K., Zhang L., Conway A., Davis B.R. Highly efficient gene editing of cystic fibrosis patient-derived airway basal cells results in functional CFTR correction. *Mol Ther.* 2020;28(7):1684-1695. doi 10.1016/j.jymthe.2020.04.021
- Taylor-Cousar J.L., Munck A., McKone E.F., van der Ent C.K., Moeller A., Simard C., Wang L.T., Ingenito E.P., McKee C., Lu Y., Lekstrom-Himes J., Elborn J.S. Tezacaftor-ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del. *N Engl J Med.* 2017; 377(21):2013-2023. doi 10.1056/NEJMoa1709846
- Van Goor F., Straley K.S., Cao D., González J., Hadida S., Hazlewood A., Joubran J., Knapp T., Makings L.R., Miller M., Neuberger T., Olson E., Panchenko V., Rader J., Singh A., Stack J.H., Tung R., Grootenhuys P.D., Negulescu P. Rescue of ΔF508-CFTR trafficking and gating in human cystic fibrosis airway primary cultures by small molecules. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006;290(6):L1117-L1130. doi 10.1152/ajplung.00169.2005
- Van Goor F., Hadida S., Grootenhuys P.D., 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 E.R., Wine J.J., Frizzell R.A., 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
- Wainwright C.E., Elborn J.S., Ramsey B.W., Marigowda G., Huang X., Cipolli M., Colombo C., Davies J.C., De Boeck K., Flume P.A., Konstan M.W., McColley S.A., McCoy K., McKone E.F., Munck A., Ratjen F., Rowe S.M., Waltz D., Boyle M.P.; TRAFFIC Study Group; TRANSPORT Study Group. Lumacaftor-ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del *CFTR*. *N Engl J Med.* 2015;373(18):1783-1784. doi 10.1056/NEJMc1510466
- Wang G. Genome editing for cystic fibrosis. *Cells.* 2023;12(12):1555. doi 10.3390/cells12121555
- Xia E., Zhang Y., Cao H., Li J., Duan R., Hu J. TALEN-mediated gene targeting for cystic fibrosis-gene therapy. *Genes (Basel).* 2019; 10(1):39. doi 10.3390/genes10010039
- Zainal Abidin N., Haq I.J., Gardner A.L., Brodli M. Ataluren in cystic fibrosis: development, clinical studies and where are we now? *Expert Opin Pharmacother.* 2017;18(13):1363-1371. doi 10.1080/14656566.2017.1359255