

# Гетерогенність фенотипових проявів муковісцидозу в дітей і предиктори тяжкості перебігу захворювання

К. В. Скрябіна<sup>id</sup> A,B,C, С. І. Ільченко<sup>id</sup> \*E,F, А. О. Фіалковська<sup>id</sup> C,D

Дніпровський державний медичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

## Ключові слова:

муковісцидоз, ген CFTR, «м'який» генотип, «важкий» генотип, предиктори, діти.

Запорізький медичний журнал. 2022. Т. 24, № 6(135). С. 674-680

\*E-mail: ilchensv@gmail.com

**Мета роботи** – вивчити гетерогенність фенотипічних проявів муковісцидозу (МВ) у дітей залежно від стану мутації гена CFTR і визначити предиктори тяжкості перебігу захворювання для персоналізації програм лікування, профілактики виникнення ускладнень.

**Матеріали та методи.** Обстежили 59 дітей, хворих на МВ, віком від 1 до 18 років (середній вік – 12,0 (8,5; 15,0) року). Усім пацієнтам виконали загальноклінічне, молекулярно-генетичне, лабораторне та мікробіологічне обстеження. Інструментальні методи дослідження передбачали спірометрію, рентгенографію та комп'ютерну томографію органів грудної порожнини, ультразвукову денситометрію. Залежно від функціональних ефектів CFTR-мутацій хворих поділили на дві групи. У групу пацієнтів із «важкими» генотипами (n = 40) залучили осіб, які мали дві мутації I та/або II класів; у групу з «м'якими» генотипами (n = 10) – дітей, котрі мали принаймні одну мутацію IV або V класів. У 9 хворих мутації не ідентифіковано.

**Результати.** Аналіз спектра генетичних варіантів гена CFTR показав, що у 10 хворих (20,0 %) визначили «м'який» генотип, у 40 (80,0 %) пацієнтів – «важкий». Найпоширеніша мутація – F508del переважно в компаунд-гетерозиготному стані (42,4 %). Встановили, що пацієнти з «м'яким» генотипом мали сприятливіший перебіг захворювання, ніж хворі з «важким» генотипом. Статистично вірогідні фенотипічні особливості перебігу МВ у дітей залежно від стану мутації F508del (F508del/F508del або F508del/nonF508del) не виявили, крім більш раннього формування легеневої гіпертензії у хворих із гомозиготним станом (47,1 % проти 16,0 %, p < 0,05). На підставі результатів логістичного регресійного аналізу встановили найбільш значущі предиктори тяжкого перебігу захворювання.

**Висновки.** Вивчення взаємозв'язку між CFTR генотипом і фенотипом дає змогу виявити асоціації між CFTR мутаціями та тяжкістю ураження травної та бронхолегеневої систем. Виявлення предикторів тяжкості захворювання може дати точніший прогноз перебігу захворювання, а отже визначить тактику ведення пацієнтів і сприятиме запобіганню ускладненням.

## Key words:

cystic fibrosis, CFTR gene, "mild" genotype, "severe" genotype, predictors, children.

Zaporozhye medical journal 2022; 24 (6), 674-680

## Heterogeneity of phenotypic manifestations of cystic fibrosis in children and predictors of the disease severity

K. V. Skriabina, S. I. Ilchenko, A. O. Fialkovska

**The aim** of the study was to investigate the heterogeneity of phenotypic manifestations of cystic fibrosis (CF) in children depending on the CFTR gene mutation and to determine predictors of the disease severity for the personalization of treatment and prevention of complications.

**Materials and methods.** Fifty-nine children with CF, aged 1 to 18 years (mean age was 12.0 (8.5; 15.0) years), were examined. All patients underwent general clinical, genetic, laboratory and microbiological examination. Instrumental methods of examination included spirometry, chest X-ray and computed tomography, ultrasound densitometry. According to the functional effects of CFTR mutations, the patients were divided into two groups. The group with "severe" genotypes (n = 40) included patients with two class I and/or II mutations, and the group with "mild" genotypes (n = 10) included patients with at least one class IV or V mutation. Mutations were not identified in 9 patients.

**Results.** Analysis of the spectrum of genetic variants in the CFTR gene showed that 10 patients (20.0 %) were identified with the "mild" genotype, and 40 patients (80.0 %) with the "severe" genotype. The most common mutation was F508del predominantly in the compound heterozygous state (42.4 %). It was found that patients with the "mild" genotype were characterized by a more favorable course of the disease than patients with the "severe" genotype. No statistically significant phenotypic features of the CF course in children depending on the F508del mutation status (F508del/F508del or F508del/nonF508del) were found, except for earlier formation of pulmonary hypertension in patients with the homozygous condition (47.1% vs 16.0 %, P < 0.05).

**Conclusions.** Examination of the relationship between CFTR genotype and phenotype has revealed associations between CFTR mutations and lesion severity of both the digestive and bronchopulmonary systems. Identification of disease severity predictors can provide a more accurate prediction of the disease course, that will determine the patient management and prevent the development of complications.

Муковісцидоз (МВ) – моногенне захворювання з ауто-сомно-рецесивним типом успадкування, що зумовлене мутацією гена муковісцидозного трансмембранного регулятора провідності (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator – CFTR) та характеризується

ураженням усіх екзокринних залоз (передусім дихальної та травної систем), продукцією густого в'язкого секрету [1]. МВ має широкий клінічний поліморфізм від відносно легкого перебігу хвороби з моносимптомними проявами до тяжких поліорганичних уражень [2].

Неоднорідність клінічної картини МВ у різних пацієнтів описано ще за 20 років до відкриття гена CFTR [3]. Розвиток ДНК-діагностики МВ і виявлення різноманітності мутацій гена CFTR частково пояснили гетерогенність фенотипічних проявів хвороби. Нині описано понад 2000 патологічних варіантів гена CFTR, 352 із них клінічно значущі, тобто спричиняють захворювання [4,5]. Сучасні класифікації мутації гена CFTR згруповані в 6 функціональних класів патогенності, що визначають тяжкість проявів хвороби залежно від механізмів, які порушують функцію білка CFTR: порушення синтезу (I клас), дозрівання (II клас), регуляції білка (III клас), зниження його провідності (IV клас), кількості нормальних фракцій (V клас), стабільності (VI клас) [6].

У клінічній практиці доцільно розрізняти «важкий» і «м'який» генотипи. Генотип, що включає 2 мутації I–III класів, формує «важкий» фенотип, асоційований із ранньою панкреатичною недостатністю; генотип хоча б з однією «м'якою» мутацією формує «м'який» фенотип, для якого характерна збережена функція підшлункової залози або пізніше виникнення панкреатичної недостатності [7]. Хворі на МВ, які мають в обох алелях однакові мутації, є гомозиготами, а ті, які мають різні види мутацій в двох алелях CFTR гена, – компаундними (збірними) гетерозиготами.

Науковий інтерес до вивчення генетичних особливостей МВ зумовлений удосконаленням методів виявлення патогенних варіантів гена, а також перспективністю патогенетичної терапії, що заснована на генотипі пацієнтів. Тип мутації певною мірою впливає на характер і тяжкість перебігу захворювання, однак лише за генотипом CFTR неможливо прогнозувати особливості захворювання в конкретного пацієнта.

Отже, для науковців і клініцистів вкрай актуальними є вивчення характеру та поширеності мутацій гена CFTR, вплив генотипу на особливості клінічного перебігу та виявлення інших предикторів тяжкості перебігу захворювання.

## Мета роботи

Вивчити гетерогенність фенотипічних проявів муковісцидозу у дітей залежно від стану мутації гена CFTR і визначити предиктори тяжкості перебігу захворювання для персоналізації програм лікування, профілактики виникнення ускладнень.

## Матеріали і методи дослідження

Обстежили 59 дітей, хворих на МВ, віком від 1 до 18 років. Пацієнти перебували на лікуванні у міському дитячому пульмонологічному центрі м. Дніпра. Серед обстежених 32 (54,2 %) хлопці і 27 (45,8 %) дівчат. Середній вік дівчат становив 12,0 (8,0; 15,0) року, хлопців – 12,0 (8,8; 15,0) року; медіана віку в загальній групі – 12,0 [8,5; 15,0] року.

Критерії залучення – вік менше ніж 18 років, підтверджений діагноз МВ, наявність письмової інформованої згоди пацієнта та його батьків на участь у дослідженні.

Діагноз МВ верифікували на підставі діагностичних критеріїв, згідно з «Уніфікованим клінічним протоколом первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Муковісцидоз»

(наказ МОЗ України № 723 від 15.07.2016 р.). Ступінь тяжкості стану хворих визначали за оцінювальною шкалою Швахмана–Кульчицького. Підсумовували бали за 4 основними параметрами: загальна активність хворого, клінічні прояви МВ, показники фізичного розвитку дитини, рентгенологічні зміни в легенях. Кожну ознаку оцінювали за шкалою від 5 до 25 балів. Стан визначали як відмінний, коли сума становила 86–100 балів, хороший – 71–85, задовільний – 56–70, середньої тяжкості – 41–55, тяжкий – 40 балів і менше.

Молекулярно-генетичне дослідження здійснили в ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», застосували метод полімеразної ланцюгової реакції. Матеріал для дослідження – ДНК, виділена з лейкоцитів периферичної крові пацієнтів. Діагностику мутацій гена CFTR виконали за допомогою панелі ДНК-діагностики МВ: F508del, CFTRdele2,3, 2143delT, W1282X, N1303K, IVS12+2T^C, 3849+10kbC>T, 2184insA, G542X, G551D, G551S, 1677delTA, 3821delT, R334W, R117C, R334W, R347H, R347L, R347C, R347P, D1270N, I336K, R560T, S549I, R553X, 17171G-A, Y122X, 621+1G-T.

Стан ендокринної функції підшлункової залози оцінювали за клінічними ознаками панкреатичної недостатності (синдром мальдигестії, мальабсорбції), рівнем нейтрального жиру в фекаліях, активністю фекальної панкреатичної еластази-1. Рівень фекальної панкреатичної еластази-1 визначали методом імуноферментного аналізу. Лабораторні критерії оцінювання результатів визначення активності фекальної панкреатичної еластази-1: норма – понад 200 мкг/г калу; помірна панкреатична недостатність – 100–200 мкг/г калу; тяжка панкреатична недостатність – менше ніж 100 мкг/г калу.

Дослідження мікробіоти дихальних шляхів здійснили в рамках сумісної НДР кафедри пропедевтики дитячих хвороб і кафедри мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології Дніпровського державного медичного університету.

Для оцінювання функції зовнішнього дихання та визначення ступеня тяжкості бронхолегеневих уражень пацієнтам віком понад 5 років виконали спірометрію на сучасному спірографі MicroLab 3500 MK8 (Велика Британія) за відомою методикою з визначенням швидкісних та об'ємних показників, обов'язково застосовували індивідуальні антибактеріальні фільтри. Для виявлення гіперреактивності бронхів виконали бронхопровокаційні проби з розчинами хлориду натрію (NaCl) різних концентрацій: стерильний 0,9 % розчин, стерильний 3 % розчин, стерильний 7 % розчин NaCl.

Для оцінювання мінеральної щільності кісток усім хворим виконали ультразвукову денситометрію на апараті Sunlight MiniOmniTM.

Опрацювання даних і статистичний аналіз виконали, застосувавши пакет програм LibreOffice (версія 4.1.2). Оцінювали кількісні та якісні показники. Тип розподілу кількісних показників визначали за допомогою тесту Шапіро–Вілка. Враховуючи, що понад 50 % кількісних показників мали непараметричний тип розподілу, їх навели як медіану й інтерквартильний розмах (Me [25 %; 75 %]). Кількісні показники у групах порівняли, застосувавши тест Манна–Вітні. Якісні дані наведено як n (%). Якісні дані зіставляли, використовуючи тест хі-квадрат Пірсона без поправки Єйтса на безперервність. Під

**Таблиця 1.** Спектр генетичних варіантів гена CFTR у групі дослідження (n = 59)

«Важкий» генотип (n = 40)		«М'який» генотип (n = 10)	
Генотип	Частота	Генотип	Частота
F508del/2143delT	3,4 (n = 2)	3849+10kbC>T/N	1,7 (n = 1)
F508del/2184insA	11,9 (n = 7)	3849+10kbC>T/N1303K	1,7 (n = 1)
F508del/CFTRdele2,3	5,1 (n = 3)	F508del/IVS12+2T>C	5,1 (n = 3)
F508del/F508del	28,8 (n = 17)	R117C/CFTRdel2,3	1,7 (n = 1)
F508del/G542X	1,7 (n = 1)	R117C/N	1,7 (n = 1)
F508del/N1303K	11,9 (n = 7)	R334W/2143delT	1,7 (n = 1)
F508del/W1282R	3,4 (n = 2)	R334W/CFTRdele2,3	1,7 (n = 1)
N1303K/N1303K	1,7 (n = 1)	R334W/N	1,7 (n = 1)

**Таблиця 2.** Генотип-фенотипічні особливості перебігу МВ у дітей, Ме [25 %; 75 %], n (%)

Показник, одиниці вимірювання	Генотип		p
	«М'який» (n = 10)	«Важкий» (n = 40)	
Вік на час встановлення діагнозу, місяці	60,0 [48,0; 84,0]	6,0 [4,0; 22,0]	<0,001
Тяжкий перебіг	1 (10,0)	33 (82,5)	<0,001
Рівень хлоридів поту, мгекв/л	81,0 [72,0; 94,5]	97,0 [85,8; 111,0]	<0,05
Меконіальний ілеус в анамнезі	0 (0,0)	6 (15,0)	>0,05
Тяжка панкреатична недостатність	0 (0,0)	23 (57,5)	≤0,001
Терапевтична доза Креону, Од./кг	1225,5 [877,0; 2272,0]	7143,0 [4990,0; 9175,0]	<0,001
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	19,4 [16,8; 21,2]	15,1 [14,0; 16,5]	<0,001
БЕН	3 (30,0)	33 (82,5)	≤0,001
Вторинний хронічний бронхіт	3 (30,0)	39 (97,5)	<0,001
Бронхоектази	3 (30,0)	39 (97,5)	<0,001
Ателектази	0 (0,0)	6 (15,0)	>0,05
Пневмофіброз	0 (0,0)	16 (40,0)	<0,05
ОФВ1, %	102,0 [101,0; 108,0]	74,0 [60,5; 92,0]	<0,01
ФЖЕЛ, %	102,0 [95,0; 104,0]	80,1 [63,0; 95,0]	<0,01
Хронічна синьогнійна інфекція	1 (10,0)	28 (70,0)	≤0,001
Алергічний бронхолегеневий аспергілез	0 (0,0)	15 (37,5)	<0,05
Пневмоторакс в анамнезі	0 (0,0)	3 (7,5)	>0,05
Дихальна недостатність у період загострення	1 (10,0)	19 (47,5)	<0,05
Дихальна недостатність у період ремісії	0 (0,0)	12 (30,0)	<0,05
SaO <sub>2</sub> у період ремісії	97,5 [97,0; 98,0]	97,0 [95,0; 98,0]	>0,05
Легенева гіпертензія	0 (0,0)	12 (30,0)	<0,05
Деформація дистальних відділів кінцівок за типом «барабанних паличок»	2 (20,0)	33 (82,5)	<0,001
Остеопороз за даними денситометрії	0 (0,0)	14 (35,0)	<0,05
Гіперреактивність бронхів	0 (0,0)	14 (35,0)	<0,05
Поліпозний пансинусит	0 (0,0)	3 (7,5)	>0,05
Ураження гепатобіліарного тракту	6 (60,0)	29 (72,5)	>0,05

час обчислень пропущені значення виключали. Під час перевірки статистичних гіпотез критичним значенням  $p$  вважали  $<0,05$ . Для виявлення предикторів тяжкого перебігу захворювання використовували уніваріантний логістичний регресійний аналіз з обчисленням відношення шансів і 95 % довірчого інтервалу (ВШ (95 % ДІ)). Для встановлення дискримінаційної здатності до прогнозування тяжкого перебігу значущі предиктори оцінювали за допомогою ROC-аналізу.

Дослідження здійснили з дозволу локальної комісії з питань біомедицини етики відповідно до основоположних морально-етичних принципів, вимог щодо дотримання прав, інтересів та особистої гідності учасників дослідження, що забезпечені нормативними документами:

Гельсінською декларацією, Конвенцією Ради Європи про права людини і біомедицину, Якісною клінічною практикою (GCP), Загальною декларацією про біоетику і права людини ЮНЕСКО, Конституцією України (ст. 3, 21, 24, 28, 32), Основами законодавства України про охорону здоров'я (ст. 43.1, 44.1).

## Результати

У результаті молекулярно-генетичного дослідження в 50 (84,7 %) хворих виявили мутації гена CFTR. У 9 (15,3 %) дітей мутації не ідентифікували, проте діагноз встановлено на підставі типової клінічної картини та двох позитивних потових проб; це відповідає сучасним критеріям діагностики МВ. Відомо, що у зв'язку з великою кількістю можливих мутацій у гені CFTR в обстежених не можна виключати невстановлені мутації.

Аналіз спектра генетичних варіантів гена CFTR (табл. 1) показав, що у 10 хворих (20,0 % від загальної кількості генотипованих) ідентифіковано «м'який» генотип, у 40 (80,0 % від кількості генотипованих) пацієнтів – «важкий». Найпоширеніша мутація в дітей м. Дніпра з МВ – F508del (71,2 %). Її виявили в 17 (28,8 %) хворих у гомозиготному стані, в 25 (42,4 %) – у компаунд-гетерозиготному стані. Серед останніх частіше визначали комбінації F508del/2184insA (n = 7, 11,9 %) та F508del/N1303K (n = 7, 11,9 %), що також належать до «важких» генотипів. Дітей із мутацією F508del/IVS12+2T>C (n = 3, 5,1 %) включили в групу з «м'яким» генотипом внаслідок наявності другої «м'якої» мутації.

Здійснили порівняльний аналіз клінічного перебігу МВ у дітей із «м'яким» і «важким» генотипами (табл. 2). Встановили, що пацієнти з «м'яким» генотипом мали більш сприятливий перебіг захворювання, ніж хворі з «важким» генотипом. Так, тяжкий перебіг захворювання визначили в 10,0 % дітей із «м'яким» генотипом і 82,5 % пацієнтів із «важким» генотипом ( $p < 0,001$ ). Меконіальний ілеус в анамнезі мали тільки діти з «важким» генотипом (n = 6; 15,0 %). Привертає увагу вірогідно нижчий рівень хлоридів поту (81,0 [72,0; 94,5] проти 97,0 [85,8; 111,0] мгекв/л,  $p < 0,05$ ) у пацієнтів із «м'яким» генотипом; це прояв менш вираженої дисфункції хлорного каналу. Вірогідно відрізнявся вік пацієнтів на час встановлення діагнозу. Так, у групі хворих із «важким» генотипом медіана віку на час визначення діагнозу значно нижча, ніж у групі з «м'яким» генотипом (6,0 [4,0; 22,0] міс. проти 60,0 [48,0; 84,0] міс.,  $p < 0,001$ ), а отже захворювання в них манифестувало раніше.

У результаті порівняння глибини уражень та ускладнень з боку шлунково-кишкового тракту й органів дихання також виявили вірогідні зміни. Зокрема, тяжку панкреатичну недостатність діагностували тільки у хворих із «важким» генотипом (n = 23; 57,5 %). У групі пацієнтів із «м'яким» генотипом виявляли здебільшого помірну панкреатичну недостатність (n = 9; 90,0 %). Відповідно, терапевтична доза Креону істотно вища в хворих із «важким» генотипом, становила 7143,0 [4990,0; 9175,0] проти 1225,5 [877,0; 2272,0] Од./кг ( $p < 0,001$ ). Оцінили нутритивний статус, використавши індекс маси тіла (ІМТ). Виявили достовірні відмінності середніх значень ІМТ у групах хворих із різними генотипами. Так, у пацієнтів із «важким» генотипом ІМТ вірогідно нижчий

Таблиця 3. Предиктори тяжкого перебігу МВ у дітей

Предиктор	ВШ (95% ДІ)	p	AUC (95 % ДІ)	Se	Sp
Хронічна бронхолегенева патологія	45,50 (7,70–879,23)	<0,01	0,77 (0,66–0,88)	0,97	0,57
Бронхоектази	45,50 (7,70–879,23)	<0,01	0,77 (0,66–0,88)	0,97	0,57
«Важкий» генотип	25,14 (6,44–132,14)	<0,01	0,81 (0,70–0,91)	0,92	0,70
Хронічна синьогнійна інфекція	22,50 (5,95–115,00)	<0,01	0,82 (0,72–0,92)	0,77	0,87
Наявність мутації F508del	17,11 (4,48–87,16)	<0,01	0,76 (0,65–0,87)	0,92	0,61
Тяжка панкреатична недостатність	16,50 (4,01–113,69)	<0,01	0,76 (0,66–0,86)	0,61	0,91
Дихальна недостатність у період загострення	10,50 (2,56–71,91)	<0,01	0,71 (0,60–0,81)	0,50	0,91
Пневмофіброз	9,39 (2,29–64,34)	0,01	0,69 (0,59–0,79)	0,47	0,91
БЕН	7,78 (2,42–28,02)	<0,01	0,72 (0,60–0,84)	0,83	0,61
Гіперреактивність бронхів	7,00 (1,55–50,55)	0,02	0,69 (0,56–0,82)	0,52	0,87
Алергічний бронхолегеневий аспергілез	6,68 (1,61–45,92)	0,02	0,65 (0,55–0,75)	0,39	0,91
Остеопороз	5,25 (1,25–36,29)	0,04	0,62 (0,53–0,72)	0,33	0,91

порівняно з особами з «м'яким» генотипом, становить 15,1 [14,0; 16,5] проти 19,4 [16,8; 21,2] кг/м<sup>2</sup> ( $p < 0,001$ ). Білково-енергетичну недостатність (БЕН) мали 33 (82,5 %) хворих із «важким» генотипом і 3 (30,0 %) дитини з «м'яким» генотипом ( $p \leq 0,001$ ).

Ураження бронхолегеневої системи, зокрема вторинний хронічний бронхіт, виявили у 3 (30,0 %) хворих із «м'яким» генотипом, 26 (65,0 %) пацієнтів із «важким» генотипом ( $p < 0,05$ ). За результатами рентгенографії та комп'ютерної томографії легень також визначили достовірні відмінності. Так, у хворих із «важким» генотипом частіше виявляли циліндричні, мішквидні або змішані бронхоектази (97,5 % проти 30,0 %,  $p < 0,001$ ) та ознаки пневмофіброзу (40,0 % проти 0,0 %,  $p < 0,05$ ). Ателектази встановили тільки у хворих ( $n = 6$ ; 15,0 %) із «важким» генотипом; це свідчить про обтурацію бронхів в'язким мокротинням.

Важливий критерій прогнозу захворювання та фактор, що визначає інтенсивність антибактеріальної терапії у хворих на МВ, – характер колонізації бронхів мікробною флорою. У пацієнтів із «важким» генотипом вірогідно частіше, ніж у хворих із «м'яким» генотипом виявляли хронічну колонізацію дихальних шляхів *Pseudomonas aeruginosa* (70,0 % проти 10,0 %;  $p \leq 0,001$ ) та алергічний бронхолегеневий аспергілез (37,5 % проти 0,0 %,  $p < 0,05$ ).

Об'єктивний критерій оцінювання ефективності терапії та прогнозу захворювання – дослідження функції зовнішнього дихання (ФЗД). Вивчивши залежність показників ФЗД від генотипу, виявили: у хворих із «важким» генотипом достовірно нижчі медіана ОФВ1 (74,0 [60,5; 92,0] проти 102,0 [101,0; 108,0] %,  $p < 0,01$ ) та ФЖЄЛ (80,1 [63,0; 95,0] проти 102,0 [95,0; 104,0] %,  $p < 0,01$ ).

У дітей із «важким» генотипом вірогідно частіше реєстрували такі ускладнення, як дихальна недостатність у період ремісії (30,0 % проти 0,0 %,  $p < 0,05$ ) та загострення (47,5 % проти 10,0 %,  $p < 0,05$ ), легенева гіпертензія (30,0 % проти 0,0 %,  $p < 0,05$ ). Ознаки хронічної гіпоксії, як-от деформації дистальних фаланг пальців за типом «барабанних паличок» і нігтьових пластин за типом «годинникового скла», виявили у 33 (82,5 %) хворих із «важким» генотипом, лише у 2 (20,0 %) пацієнтів із «м'яким» генотипом ( $p < 0,001$ ). За результатами денситометрії остеопороз діагностували в 14 (35,0 %) хворих із «важким» генотипом.

Гіперреактивність бронхів зареєстрували тільки у хворих із «важким» генотипом (35,0 % проти 0,0 %,  $p < 0,05$ ).

$p < 0,05$ ). Відомо, що у хворих на МВ вона істотно погіршує перебіг захворювання, ускладнює інгаляційну терапію гіпертонічними розчинами NaCl, що передбачена сучасними протоколами лікування.

Порівняли фенотипічні особливості перебігу МВ у дітей залежно від стану мутації F508del. У 17 (28,8 %) хворих її виявили в гомозиготному стані (F508del/F508del), у 25 (42,4 %) – у компаунд-гетерозиготному стані (F508del/nonF508del). В обох підгрупах переважали випадки тяжкого перебігу (82,4 % проти 76,0 % відповідно,  $p > 0,05$ ). Зареєстрували також окремі випадки нетяжкого перебігу, але статистично достовірність не підтверджена. Визначили, що достовірних фенотипічних особливостей в групах порівняння майже не було, крім швидшого формування легеневої гіпертензії у хворих із гомозиготним станом (47,1 % проти 16,0 %,  $p < 0,05$ ).

Наступний етап роботи – виявлення предикторів тяжкого перебігу захворювання. За результатами логістичного регресійного аналізу, найбільш значущими предикторами тяжкого перебігу захворювання виявилися хронічна бронхолегенева патологія (ВШ = 45,50; 95 % ДІ (7,70–879,23)), бронхоектази (ВШ = 45,50; 95 % ДІ (7,70–879,23)), «важкий» генотип (ВШ = 25,14; 95 % ДІ (6,44–132,14)), хронічна синьогнійна інфекція (ВШ = 22,50; 95 % ДІ (5,95–115,00)), мутація F508del (ВШ = 17,11; 95 % ДІ (4,48–87,16)), тяжка панкреатична недостатність (ВШ = 16,50; 95 % ДІ (4,01–113,69)), дихальна недостатність у період загострення (ВШ = 10,50; 95 % ДІ (2,56–71,91)), пневмофіброз (ВШ = 9,39; 95 % ДІ (2,29–64,34)), БЕН (ВШ = 7,78; 95 % ДІ (2,42–28,02)), гіперреактивність бронхів (ВШ = 7,00; 95 % ДІ (1,55–50,55)), алергічний бронхолегеневий аспергілез (ВШ = 6,68; 95 % ДІ (1,61–45,92)) та остеопороз (ВШ = 5,25; 95 % ДІ (1,25–36,29)) (табл. 3).

Згідно з результатами ROC-аналізу, найбільш впливові предиктори тяжкого перебігу захворювання – хронічна синьогнійна інфекція (чутливість – 77,0 %, специфічність – 87,0 %) і «важкий» генотип (чутливість – 92,0 %, специфічність – 70,0 %), що мали значення площі під ROC-кривою більше ніж 0,8.

## Обговорення

Результати дослідження показали, що мутації гена CFTR виявили в 50 (84,7 %) хворих, у 9 (15,3 %) дітей вони ідентифіковані. За даними Європейського реєстру МВ, мутації не виявляють у 5–10 % хворих, незважаючи на

використання провідних методів діагностики в генетиці. Це пов'язано з тим, що ген CFTR відносно великий за розміром, має високий ступінь генетичної гетерогенності, тому складно виявити мутації, що пов'язані з некодуючими, промоторними ділянками гена, а також ті, що розташовані в місцях, віддалених від генів [8].

За даними, що отримали, найпоширеніша мутація в дітей із м. Дніпра, які хворі на МВ, – F508del (71,2 %), здебільшого (42,4 %) – у компаунд-гетерозиготному стані. Мутація F508del гена CFTR є найпоширенішою у хворих на МВ із різними частотами виявлення у світі. У дослідженні M. Singh et al. показано: приблизна частота F508del становила 31 % в Індії, 15 % – у Саудівській Аравії, 36 % – у Лівані, 31 % – у Туреччині [9]. В іншому дослідженні, що здійснили в країнах Європи та Північної Африки, частота F508del досягала 70–90 % [10].

Порівняли клінічний перебіг МВ у дітей із різними генотипами. Відповідно до функціональних ефектів CFTR-мутацій хворих поділили на дві групи. У групу хворих із «важкими» генотипами (n = 40) залучили дітей, які мали дві мутації I та/або II класів, у групу з «м'якими» генотипами (n = 10) – пацієнтів, які мали принаймні одну мутацію IV або V класів. Наші результати, як і дані більшості досліджень із цієї теми, визначили певні особливості перебігу захворювання у носіїв «м'яких» мутацій [11,12]. Показали, що пацієнти з «м'яким» генотипом були старшими на час встановлення діагнозу, мали достовірно нижчі показники потової проби, менші порушення функції підшлункової залози, а отже кращі показники нутритивного статусу та функції дихання, в них зафіксували меншу частоту виникнення таких ускладнень, як дихальна недостатність, легенева гіпертензія та остеопороз. Виникнення хронічної інфекції *Pseudomonas aeruginosa* визначали пізніше та з меншою частотою, ніж у хворих із «важким» генотипом. У низці робіт показано: пацієнти з «м'якими» генотипами мають сприятливіший мікробіологічний фон і найчастіше інфіковані *S. aureus* [8]. Такі результати можна пояснити тяжкою дисфункцією CFTR у хворих із «важким» генотипом, що призводить до глибокого порушення реологічних властивостей мокротиння та посилення його в'язкості. Це збільшує ризик інфікування патологічними мікроорганізмами.

Оцінили фенотипічні особливості перебігу МВ у дітей залежно від стану мутації F508del. У підгрупах хворих і з гомозиготним (28,8 %), і з компаунд-гетерозиготним (42,4 %) станом мутації F508del переважали випадки тяжкого перебігу (82,4 % проти 76,0 % відповідно,  $p > 0,05$ ), але зареєстрували й окремі випадки нетяжкого перебігу. Втім, статистично вірогідність не підтверджено. Достовірних фенотипічних особливостей у групах порівняння майже не було, крім швидшого формування легеневої гіпертензії у хворих із гомозиготним станом (47,1 % проти 16,0 %,  $p < 0,05$ ). За даними інших досліджень, у пацієнтів із гомозиготною мутацією F508del зазвичай спостерігають тяжкий перебіг. Santos C. de S., Steemburgo T. [13] та Farra C. et al. [14] повідомили про вищий рівень потової проби, більш ранній початок і вищу смертність у пацієнтів із МВ, гомозиготних за F508del, порівняно з хворими на МВ з іншими варіантами гена CFTR. Проте в іншому дослідженні, що здійснили Y. Gökdemir et al. у Туреч-

чині, тяжкі респіраторні розлади з майже однаковою частотою виявляли в гомозиготних і гетерозиготних носіїв мутації F508del [15]. Відсутність достовірних фенотипічних особливостей можна пояснити ймовірно наявністю другої «важкої» мутації в обстежених із гетерозиготним станом мутації F508del. Друга «м'яка» мутація в компаунд-гетерозиготному стані домінує над ефектом «важкої», формує «м'який» фенотип, що характеризується сприятливішим перебігом.

За результатами логістичного регресійного аналізу серед найбільш значущих предикторів тяжкого перебігу захворювання підтвердили роль «важкого» генотипу, мутації F508del навіть у компаунд-гетерозиготному стані, хронічної бронхолегеневої патології з формуванням бронхоектазів і пневмофіброзу, хронічної інфекції *Pseudomonas aeruginosa*, порушень нутритивного статусу, а також уточнили роль досі недостатньо вивчених факторів, як-от гіперреактивність бронхів на інгаляції сольових розчинів, алергічний бронхолегеневий аспергільоз, остеопороз.

Гіперреактивність бронхів на інгаляції сольових розчинів у хворих на МВ різко ускладнює перебіг бронхолегеневого процесу: призводить до інтенсифікації інфекційного процесу та формування «замкнутого кола» обструкція – інфекція – запалення з пошкодженням тканин легень, що клінічно виявляється як прогресивне зниження функціональних показників дихання [16].

Порушення мукоциліарного кліренсу, особливості імунної відповіді, тривала антибактеріальна терапія у хворих на МВ можуть призвести до виникнення алергічного бронхолегеневого аспергільозу, що значно погіршує функцію дихання. Доведено, що приєднання грибкової інфекції, спричиненої *Aspergillus fumigatus*, погіршує прогноз основного захворювання, спричиняючи бронхоспазм, появу бронхоектазів, зумовлюючи прогресування фіброзу легень і виникнення кровохаркання [17].

Остеопороз можна вважати невід'ємним ускладненням МВ, що асоційоване з дорослішанням пацієнтів [18]. Порушення метаболізму кісткової тканини у хворих на МВ має мультифакторний характер. Одна з найважливіших причин порушень кісткового метаболізму при МВ – дефіцит вітаміну D. Основними причинами дефіциту вітаміну D у пацієнтів із МВ вважають мальабсорбцію, що зумовлена екзокринною недостатністю підшлункової залози, порушення метаболізму вітаміну D через патологію печінки, зниження інсоляції, географічну широту проживання пацієнта, низький нутритивний статус, а також підвищені витрати вітаміну D у результаті хронічного запалення, що персистує [19]. Порушення процесів метаболізму кісткової тканини, типове для пацієнтів із МВ, може не лише спричиняти уповільнення темпів лінійного зростання дитини, але й супроводжуватися низькотравматичними переломами кісток скелета, призводячи до тривалої іммобілізації пацієнта, а отже і виникнення бронхолегеневого загострення [18].

В епідеміологічних і клінічних дослідженнях показано зв'язок статусу вітаміну D із легеневою функцією, виразністю запалення, частотою загострень [20].

Отже, вивчення взаємозв'язку між CFTR генотипом і фенотипом дає змогу виявити асоціації між CFTR мутаціями та тяжкістю ураження травної та бронхолегеневої

систем. Виявлення предикторів тяжкості захворювання може дати точніший прогноз перебігу захворювання, а отже визначить тактику ведення пацієнтів і сприятиме запобіганню ускладненням.

## Висновки

1. Аналіз спектра генетичних варіантів гена CFTR показав, що у дітей із МВ переважали «важкі» генотипи. Найпоширеніша мутація – F508del, здебільшого в компаунд-гетерозиготному стані; частіше виявляли комбінації F508del/2184insA та F508del/N1303K, що належать до «важких» генотипів, але були клінічні випадки і з «м'яким» генотипом внаслідок наявності другої «м'якої» мутації (F508del/IVS12+2T>C). На практиці слід враховувати, що «важким» генотип може бути і без наявності мутації F508del.

2. У результаті порівняльного аналізу клінічного перебігу МВ у дітей із «м'яким» і «важким» генотипами встановили: пацієнти з «м'яким» генотипом мали сприятливіший перебіг захворювання, ніж хворі з «важким» генотипом.

3. Не виявили статистично достовірні фенотипічні особливості перебігу МВ у дітей залежно від стану мутації F508del (F508del/F508del або F508del/nonF508del), крім більш раннього формування легеневої гіпертензії у хворих із гомозиготним станом (47,1 % проти 16,0 %,  $p < 0,05$ ).

4. За результатами логістичного регресійного аналізу серед найбільш значущих предикторів тяжкого перебігу захворювання підтверджено роль «важкого» генотипу, мутації F508del навіть у компаунд-гетерозиготному стані, хронічної бронхолегеневої патології з формуванням бронхоектазії і пневмофіброзу, хронічної синьогнійної інфекції, порушень нутритивного статусу, а також уточнено роль недостатньо вивчених факторів: гіперреактивності бронхів на інгаляції сольових розчинів, алергічного бронхолегеневого аспергілозу й остеопорозу.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у розробленні персоналізованих програм лікування, що сприятиме запобіганню ускладненням.

## Фінансування

Дослідження виконано в рамках НДР Дніпровського державного медичного університету: «Бронхіти у дітей з коморбідними станами: клінічний перебіг та їх сучасна етіологія», № держреєстрації 0116U004962.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 24.05.2022

Після доопрацювання / Revised: 09.06.2022

Прийнято до друку / Accepted: 21.06.2022

## Відомості про авторів:

Скрябіна К. В., асистент каф. пропедевтики дитячих хвороб, Дніпровський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9792-6269](https://orcid.org/0000-0002-9792-6269)

Ільченко С. І., д-р мед. наук, професор каф. пропедевтики дитячих хвороб, Дніпровський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-8052-8678](https://orcid.org/0000-0002-8052-8678)

Фіалковська А. О., канд. мед. наук, доцент каф. пропедевтики дитячих хвороб, Дніпровський державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-6004-8418](https://orcid.org/0000-0001-6004-8418)

## Information about authors:

Skriabina K. V., MD, Assistant of the Department of Propaedeutics of Children's Diseases, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Ilchenko S. I., MD, PhD, DSc, Professor of the Department of Propaedeutics of Children's Diseases, Dnipro State Medical University, Ukraine.

Fialkovska A. O., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Propaedeutics of Children's Diseases, Dnipro State Medical University, Ukraine.

## Список літератури

- Березенко В. С., Резніков Ю. П., Крат В. В. Муковісцидоз у дітей. Своєчасна діагностика як важливий предиктор ефективності лікування (клінічний випадок). *Перинатологія і педіатрія. Україна*. 2017. № 3. С. 74-80. <https://doi.org/10.15574/PP.2017.71.74>
- Роль генетичних та медико-соціальних факторів у перебігу муковісцидозу. Клінічне спостереження / Г. С. Сенаторова та ін. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2019. Т. 4, № 2. С. 173-180.
- Gurwitz, D., Corey, M., Francis, P. W., Crozier, D., & Levison, H. (1979). Perspectives in cystic fibrosis. *Pediatric clinics of North America*, 26(3), 603-615. [https://doi.org/10.1016/s0031-3955\(16\)33752-x](https://doi.org/10.1016/s0031-3955(16)33752-x)
- Cystic Fibrosis Mutation Database (CFTR1). URL : <http://genet.sickkids.on.ca>
- The Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). URL : <https://www.cfr2.org>
- Dechecchi M. C., Tamanini A., Cabrini G. Molecular basis of cystic fibrosis: from bench to bedside. *Annals of translational medicine*. 2018. Vol. 6, Iss. 17. P. 334. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.06.48>
- Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice / C. Castellani et al. *Journal of cystic*. 2008. Vol. 7, Iss. 3. P. 179-196. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2008.03.009>
- Rafeey M., Jabarpour-Bonyadi M., Vahedi L. Genotype-Phenotype Correlation for Cystic Fibrosis According to Registry Center of Cystic Fibrosis. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*. 2020. Vol. 7, Iss. 1. P. 124-129.
- Epidemiology and genetics of cystic fibrosis in Asia: In preparation for the next-generation treatments / M. Singh, C. Rebordosa, J. Bernholz, N. Sharma. *Respirology*. 2015. Vol. 20, Iss. 8. P. 1172-1181. <https://doi.org/10.1111/resp.12656>
- An evolutionary approach to the high frequency of the Delta F508 CFTR mutation in European populations / M. A. Alfonso-Sánchez, A. M. Pérez-Miranda, S. García-Obregón, J. A. Peña. *Medical hypotheses*. 2010. Vol. 74, Iss. 6. P. 989-992. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.12.018>
- Salvatore F., Scudiero O., Castaldo G. Genotype-phenotype correlation in cystic fibrosis: the role of modifier genes. *American journal of medical genetics*. 2002. Vol. 111, Iss. 1. P. 88-95. <https://doi.org/10.1002/ajmg.10461>
- Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. Annual Data Report 2020 / Cystic Fibrosis Foundation. URL : <https://www.cff.org>
- Santos C. de S., Steemburgo T. Nutritional status and dietary factors in cystic fibrosis patients with delta F508 mutation. *Revista de Nutricao*. 2015. Vol. 28, Iss. 4. P. 359-369. <https://doi.org/10.1590/1415-52732015000400003>
- Mutational spectrum of cystic fibrosis in the Lebanese population / C. Farra et al. *Journal of cystic fibrosis*. 2010. Vol. 9, Iss. 6. P. 406-410. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2010.08.001>
- Other risk factors associated with mortality in moderate and severe cystic fibrosis patients / Y. Gökdemir et al. *Türk Pediatri Arsivi*. 2012. Vol. 47, Iss. 4. P. 267-271. <https://doi.org/10.4274/tpa.901>
- Порівняння ефективності та переносимості інгаляційних гіпертонічних розчинів хлориду натрію в педіатричній практиці / С. І. Ільченко та ін. *Медичні перспективи*. 2021. Т. 26, № 1. С. 136-142. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2021.1.227953>
- Janahi I. A., Rehman A., Al-Naimi A. R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *Annals of thoracic medicine*. 2017. Vol. 12, Iss. 2. P. 74-82. [https://doi.org/10.4103/atm.ATM\\_231\\_16](https://doi.org/10.4103/atm.ATM_231_16)
- Guide to bone health and disease in cystic fibrosis / R. M. Aris et al. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005. Vol. 90, Iss. 3. P. 1888-1896. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-1629>

- [19] Chesdachai S., Tangpricha V. Treatment of vitamin D deficiency in cystic fibrosis. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2016. Vol. 164. P. 36-39. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.09.013>
- [20] Elyashar-Earon, H., Shoseyov, D., Cohen-Cymbarknoh, M., Armoni, S., Kerem, E., & Wilschanski, M. (2015). WS04.5 Vitamin D influence on respiratory exacerbations and hospitalizations in cystic fibrosis patients / Y. Abu-Fraiha et al. *Journal of Cystic Fibrosis*. Vol. 14. S8. [https://doi.org/10.1016/s1569-1993\(15\)30025-4](https://doi.org/10.1016/s1569-1993(15)30025-4)

## References

- [1] Berezenko, V. S., Reznikov, Yu. P., & Krat, V. V. (2017). Mukovistsydoz u ditei. Svoiechasna diahnozyka yak vazhlyvyi predyktor efektyvnosti likuvannya (klinichnyi vypadok). [Cystic fibrosis in children. Early diagnosis as important predictor of treatment efficiency (clinical case)]. *Perinatology and pediatric. Ukraine*, (3), 74-80. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15574/PP.2017.71.74>
- [2] Senatorova, G. S., Tel'nova, L. G., Chernenko, L. N., Polyakov, V. V., Bashkirova, N. V., & Strelkova, M. I. (2019). Rol henetychnykh ta medyko-sotsialnykh faktoriv u perebihu mukovistsydozu. Klinichne sposterezhenia [The Role of Genetic and Medical-social Factors in the Course of Cystic Fibrosis. Clinical Cases]. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sport*, 4(2), 173-180. [in Ukrainian].
- [3] Gurwitz, D., Corey, M., Francis, P. W., Crozier, D., & Levison, H. (1979). Perspectives in cystic fibrosis. *Pediatric clinics of North America*, 26(3), 603-615. [https://doi.org/10.1016/s0031-3955\(16\)33752-x](https://doi.org/10.1016/s0031-3955(16)33752-x)
- [4] Cystic Fibrosis Mutation Database (CFTR1). <http://genet.sickkids.on.ca>
- [5] The Clinical and Functional Translation of CFTR (CFTR2). <https://www.cftr2.org>
- [6] Dececchi, M. C., Tamanini, A., & Cabrini, G. (2018). Molecular basis of cystic fibrosis: from bench to bedside. *Annals of translational medicine*, 6(17), 334. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.06.48>
- [7] Castellani, C., Cuppens, H., Macek, M., Jr, Cassiman, J. J., Kerem, E., Durie, P., Tullis, E., Assael, B. M., Bombieri, C., Brown, A., Casals, T., Claustres, M., Cutting, G. R., Dequeker, E., Dodge, J., Doull, I., Farrell, P., Ferec, C., Girodon, E., Johannesson, M., ... Elborn, J. S. (2008). Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *Journal of cystic*, 7(3), 179-196. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2008.03.009>
- [8] Rafeey, M., Jabarpoor-Bonyadi, M., & Vahedi, L. (2020). Genotype-Phenotype Correlation for Cystic Fibrosis According to Registry Center of Cystic Fibrosis. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*, 7(1), 124-129.
- [9] Singh, M., Rebordosa, C., Bernholz, J., & Sharma, N. (2015). Epidemiology and genetics of cystic fibrosis in Asia: In preparation for the next-generation treatments. *Respirology (Carlton, Vic.)*, 20(8), 1172-1181. <https://doi.org/10.1111/resp.12656>
- [10] Alfonso-Sánchez, M. A., Pérez-Miranda, A. M., García-Obregón, S., & Peña, J. A. (2010). An evolutionary approach to the high frequency of the Delta F508 CFTR mutation in European populations. *Medical hypotheses*, 74(6), 989-992. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2009.12.018>
- [11] Salvatore, F., Scudiero, O., & Castaldo, G. (2002). Genotype-phenotype correlation in cystic fibrosis: the role of modifier genes. *American journal of medical genetics*, 111(1), 88-95. <https://doi.org/10.1002/ajmg.10461>
- [12] Cystic Fibrosis Foundation. (2020). *Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. Annual Data Report 2020*. <https://www.cff.org>
- [13] Santos, C. de S., & Steemburgo, T. (2015). Nutritional status and dietary factors in cystic fibrosis patients with delta F508 mutation. *Revista de Nutricao*, 28(4), 359-369. <https://doi.org/10.1590/1415-52732015000400003>
- [14] Farra, C., Menassa, R., Awwad, J., Morel, Y., Salameh, P., Yazbeck, N., Majdalani, M., Wakim, R., Yunis, K., Mroueh, S., & Cabet, F. (2010). Mutational spectrum of cystic fibrosis in the Lebanese population. *Journal of cystic fibrosis*, 9(6), 406-410. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2010.08.001>
- [15] Gökdemir, Y., Erdem, E., Akpınar, I. N., Ersu, R., Karadağ, B., & Karakoç, F. (2012). Other risk factors associated with mortality in moderate and severe cystic fibrosis patients. *Turk Pediatri Arsivi*, 47(4), 267-271. <https://doi.org/10.4274/tpa.901>
- [16] Ilchenko, S. I., Fialkowska, A. O., Cherhinet, V. I., & Skriabina, K. V. (2021). Porivniannia efektyvnosti ta perenosymosti inhaliatsiynykh hipertoniichnykh rozchyniv khlorydu natriu v pediatrichnii praktytsi [Comparison of the efficacy and tolerability of inhaled hypertonic salines of sodium chloride in pediatric practice]. *Medychni perspektivy*, 26(1), 136-142. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2021.1.227953>
- [17] Janahi, I. A., Rehman, A., & Al-Naimi, A. R. (2017). Allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *Annals of thoracic medicine*, 12(2), 74-82. [https://doi.org/10.4103/atm.ATM\\_231\\_16](https://doi.org/10.4103/atm.ATM_231_16)
- [18] Aris, R. M., Merkel, P. A., Bachrach, L. K., Borowitz, D. S., Boyle, M. P., Elkin, S. L., Guise, T. A., Hardin, D. S., Haworth, C. S., Holick, M. F., Joseph, P. M., O'Brien, K., Tullis, E., Watts, N. B., & White, T. B. (2005). Guide to bone health and disease in cystic fibrosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 90(3), 1888-1896. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-1629>

- [19] Chesdachai, S., & Tangpricha, V. (2016). Treatment of vitamin D deficiency in cystic fibrosis. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 164, 36-39. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.09.013>
- [20] Abu-Fraiha, Y., Elyashar-Earon, H., Shoseyov, D., Cohen-Cymbarknoh, M., Armoni, S., Kerem, E., & Wilschanski, M. (2015). WS04.5 Vitamin D influence on respiratory exacerbations and hospitalizations in cystic fibrosis patients. *Journal of Cystic Fibrosis*, 14, S8. [https://doi.org/10.1016/s1569-1993\(15\)30025-4](https://doi.org/10.1016/s1569-1993(15)30025-4)