

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ЭНДОКРИНОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Куликова Кристина Сергеевна

**КЛИНИКО-ГОРМОНАЛЬНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНО -
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
РАХИТОПОДОБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

**Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук**

14.01.02 - эндокринология

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
А.Н. Тюльпаков

Москва – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Введение	11
1.2. Метаболизм витамина Д	14
1.3. Гипофосфатазия	20
1.4. Витамин - Д - зависимый рахит	23
1.5. Витамин - Д - резистентный рахит	28
1.6. Другие формы рахита	39
1.7. Терапия витамин - Д - резистентного рахита	42
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
2.1. Характеристика исследуемых групп пациентов	45
2.2. Лабораторные методы исследования	49
2.3. Молекулярно-генетическое исследование	51
2.4. Статистический анализ	53
ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	54
ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	95
ВЫВОДЫ	112
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	114
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	115
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	117
ПРИЛОЖЕНИЕ	139

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Рахитоподобные заболевания (РПЗ) - это гетерогенная группа заболеваний наследственной природы, в патогенезе которых могут быть задействованы изменения различных звеньев регуляции фосфорно-кальциевого обмена, ведущие к нарушению минерализации костной ткани в зоне ростовых пластин и другим полиорганным осложнениям.

Наследственные формы рахита остаются актуальной медикосоциальной проблемой, требующей постоянного обновления знаний, как эндокринологов, так и врачей другого профиля. Это обусловлено тем, что клиническая картина РПЗ имеет значительную гетерогенность и может проявляться, помимо выраженных деформаций скелета, задержкой физического развития, гипотонией, нарушением акта дыхания, судорожным синдромом, частыми переломами, ранним выпадением зубов, алопецией и др..

В некоторых случаях несвоевременность диагностики, соответственно, отсутствие адекватной терапии, обуславливает прогрессию заболевания с высоким риском развития тяжелых инвалидизирующих осложнений и возможным летальным исходом в раннем детском возрасте.

В течение последних десятилетий в мире сделан большой прорыв в области изучения этиопатогенетических механизмов РПЗ. Данные открытия подтверждают исключительную роль молекулярно-генетической диагностики в определении причин развития рахита [1].

К группе генетически детерминированных форм рахита относятся: 1) витамин-Д-зависимый рахит (ВДЗР); 2) витамин-Д-резистентный рахит (ВДРР); 3) гипофосфатазия (ГФ).

Гипофосфатазия обусловлена дефицитом тканенеспецифичной щелочной фосфатазы (ТНЩФ, TNSALP) в результате мутаций гена *ALPL*. Снижение активности ТНЩФ приводит к накоплению пирофосфатов в организме, следствием чего является нарушение синтеза гидроксиапатита костного матрикса, а также недостаток биодоступного витамина В6 в центральной нервной системе, что в свою очередь обуславливает широкий диапазон симптомов заболевания и степень их выраженности.

ВДЗР характеризуется развитием рахита из-за снижения всасывания кальция в стенке кишечника вследствие нарушения этапов гидроксилирования нативной формы витамина Д (холекальциферола) или резистентностью тканей-мишеней к гормонально-активной форме $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Развитие ВДЗР 1А типа связано с дефицитом 1α -гидроксилазы в почках в результате дефекта гена *CYP27B1*, что приводит к нарушению окисления кальцидиола до кальцитриола. Имеются единичные описания пациентов с ВДЗР 1В типа с мутациями гена *CYP2R1*, который кодирует 25-гидроксилазу печени, принимающей участие в синтезе кальцидиола [2]. При ВДЗР 2А типа синтез кальцитриола не нарушен, но в результате поломок гена рецептора витамина D (*VDR*) отмечается частичная или полная нечувствительность тканей к действию $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Витамин-Д-резистентный рахит или гипофосфатемический рахит (ГФР) характеризуется развитием рахитических изменений костной ткани, гипотонией по причине повышенного выведения фосфора из организма [3]. В настоящее время известно более 10 генов, ассоциированных с данной формой рахита, наиболее часто выявляются мутации гена *PHEX* (MIM

300550), ведущие к развитию X-сцепленного доминантного варианта ГФР (X-linked hypophosphatemia, XLH).

Определение молекулярно-генетических основ возникновения РПЗ в детском возрасте предоставляет возможность ранней диагностики и назначения патогенетически обоснованного лечения. Большинство пациентов с ВДЗР 1А типа на фоне адекватной терапии демонстрируют полный регресс заболевания, а в случае ВДЗР 2А типа - может отмечаться значительное улучшение состояния ребенка. В настоящее время пациенты с тяжелыми формами ГФ и высоким риском летального исхода имеют уникальную возможность полной нормализации состояния на фоне применения рекомбинантной тканенеспецифической щелочной фосфатазы и основная задача заключается в диагностике заболевания в первые дни или месяц жизни. Одним из наиболее сложных в решении вопросов терапии является поиск оптимального средства лечения для пациентов с ГФР, так как те методики, которые существуют сейчас, в ряде случаев не дают желаемого результата. Однако можно с большей вероятностью предполагать, что определение всех генетических факторов, детерминирующих развитие ГФР, будет способствовать созданию наилучшего способа лечения в ближайшем будущем.

Генетическая верификация диагноза у пациентов с мутациями в генах, ассоциированных с развитием наследственных форм рахита, также необходима для проведения медико-генетического консультирования в вопросах дальнейшего планирования семьи.

В некоторых странах существуют стандартизированные протоколы диагностики и лечения пациентов с клинической картиной рахита. Однако, учитывая сложность регуляции фосфорно-кальциевого обмена и с каждым годом открытие новых механизмов, требуется усовершенствование данных

протоколов. В России в течение последних 2 лет появились подобные клинические рекомендации по ГФ и различным формам тубулопатий, но единый алгоритм диагностики и лечения пациентов с подозрением на наследственную форму рахита не сформирован. Также важно подчеркнуть, что ранее молекулярно–генетическое обследование пациентов с подозрением на РПЗ в России не проводилось.

Цель исследования

Определить клинические, гормонально-биохимические и молекулярно-генетические характеристики пациентов с подозрением на рахитоподобные заболевания, на основании которых разработать алгоритм ведения пациентов с РПЗ.

Задачи исследования

1. Оценить клинические характеристики пациентов с различными формами РПЗ.
2. Проанализировать биохимические и гормональные параметры и определить наиболее значимые лабораторные маркеры для диагностики различных форм РПЗ.
3. Определить наиболее распространенные в российской популяции генетические формы РПЗ.
4. Оценить результативность метода параллельного секвенирования в диагностике наследственных форм рахита.
5. Оценить результаты консервативного и оперативных методов лечения различных форм РПЗ.

Научная новизна

В данной работе впервые в России изучались и сопоставляли клинические, биохимические и гормональные проявления РПЗ у пациентов различных возрастных групп.

Впервые в России для диагностики РПЗ у детей и взрослых был применен метод высокопроизводительного параллельного секвенирования, с помощью которого были изучены молекулярно-генетические особенности наследственных форм рахита в большой выборке пациентов.

Впервые в РФ среди пациентов с клинической картиной рахита было одномоментно проведено исследование более 20 генов (*ALPL*, *ATP6V0A4*, *ATP6V1B1*, *CASR*, *CLCN5*, *CLCNKB*, *CYP24A1*, *CYP27B1*, *CYP2R1*, *DMP1*, *ENPP1*, *FGF23*, *GALNT3*, *KL*, *LRP5*, *PHEX*, *PTHRI*, *SLC2A2*, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*, *VDR*), ответственных за регуляцию минерального обмена.

На основании полученных данных было впервые продемонстрировано преобладание витамин-Д-резистентного рахита в структуре наследственных форм рахита в российской популяции пациентов.

Практическая значимость работы

На основании полученных данных нами определены наиболее значимые клинические и биохимические маркеры наследственных форм рахита, позволяющие проводить раннюю диагностику РПЗ.

Продemonстрирована высокая информативность метода расчета индексов тубулярной реабсорбции фосфатов для диагностики гиперфосфатурии у пациентов с различными формами наследственного ГФР.

Представлено исключительное значение лучевых методов исследования в диагностике обменных заболеваний костей.

По совокупности полученных результатов катamnестического наблюдения пациентов с ГФР нами сделан вывод о недостаточной эффективности консервативных методов лечения и нецелесообразности проведения у данной группы больных высокотравматичных операций по исправлению деформаций ног в раннем детском возрасте.

Настоящая работа продемонстрировала высокую значимость молекулярно-генетических методов диагностики наследственных форм рахита, результаты которой определяют тактику лечения пациентов, а также могут быть использованы при проведении пренатальной диагностики в семьях с верифицированным ранее молекулярно-генетическим диагнозом.

Результаты молекулярно-генетического исследования с применением метода высокопроизводительного параллельного секвенирования позволили выделить ГФР как наиболее часто встречающуюся форму заболевания в структуре РПЗ.

На основании проведенного исследования нами был разработан алгоритм диагностики и лечения пациентов с клинической картиной рахита.

Основные положения, выносимые на защиту

Наследственные формы рахита являются группой обменных заболеваний, характеризующиеся высоким уровнем morbidity.

При имеющихся терапевтических возможностях результаты консервативных методов лечения гипофосфатемического рахита остаются неудовлетворительными, а оперативные вмешательства по исправлению деформаций в раннем детском возрасте являются нецелесообразными.

При подозрении на наследственные формы ГФР обязательным биохимическим исследованием является определение гиперфосфатурии методом расчета индексов тубулярной реабсорбции фосфора ввиду его высокой информативности по сравнению с рутинными методами определения фосфора в моче.

ГФР, обусловленный дефектами гена *PHEX*, является наиболее распространенной формой наследственного рахита.

Для определения формы РПЗ показано проведение молекулярно-генетического исследования методом высокопроизводительного параллельного секвенирования ввиду его высокой эффективности.

Внедрение в практику

Научные положения и практические рекомендации, изложенные в диссертации, внедрены в повседневную работу отделения наследственных эндокринопатий НИИ Детской эндокринологии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, ГБУЗ Детской городской клинической больницы № 9 имени Г.Н. Сперанского ДЗ Москвы.

Апробация полученных результатов

Диссертационная работа апробирована 27 июня 2016 года на межотделенческой конференции ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России. Основные положения диссертации обсуждены на XI российской научно-практической конференции детских эндокринологов «Персонализированная эндокринологическая помощь в педиатрии» (Санкт-Петербург, 2015), 54-ой ежегодной встрече европейского общества детских эндокринологов (Барселона, 2015), IX городской научно-практической конференции «Эндокринологические аспекты в педиатрии» (Москва, 2015),

VII Всероссийском конгрессе эндокринологов (Москва, 2016), Международной научно-практической конференции «Илизаровские чтения» (Курган, 2016).

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 6 научных работ, в том числе 3 статьи в отечественных журналах, включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для публикации основных научных результатов диссертаций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на русском языке, в объеме 142 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, 4 глав собственных наблюдений, главы заключения и обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 11 таблицами и 16 рисунками. Список использованной литературы включает 200 источников: 6 отечественных и 194 зарубежных.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Введение

Рахит и фенотипически сходные с ним рахитоподобные заболевания (РПЗ) относятся к группе метаболических заболеваний, которые характеризуются недостаточной минерализацией в зоне ростовой пластины (physes) костей, а также избыточным разрастанием в этой зоне хрящевой ткани за счет запаздывания эндохондрального окостенения по причине недостаточности циркулирующих ионов кальция и фосфата и, соответственно, невозможностью построения из них кристаллов гидроксиапатита, что и приводит к нарушению роста кости и формированию деформаций скелета [1-13]. Как правило, развитие подобных изменений костной ткани наблюдается в период активного роста человека, однако нарушения минерализации могут быть зафиксированы и у взрослых, что обозначается термином остеомалация.

Слово «рахит» в переводе означает: rachis – позвоночник, соответственно, rachitis – воспаление (заболевание) позвоночника. По мнению некоторых авторов, оно может происходить от английского «wrickken», что означает «крутить». В своей работе С.Ф. Хотовицкий (1847) отмечает связь с греческим словом «ραχίτησ», которое переводится как «страдание спины».

Первые систематические описания данного заболевания были последовательно выполнены врачами Whistler, Boote, Glisson и Mayow в середине 17-го века, назвавшими его болезнью английских детей [13]. В 18-ом веке авторами McCollum, Davis и Mellanby были впервые высказаны предположения о наличии антирахитического средства. В 1935 году Windaus и Bock выделили субстанцию витамина D или

холекальциферола. Витамин D_3 является естественной формой витамина D и образуется в коже под действием УФ-облучения из 7-дегидрохолестерина [15,16].

С течением времени были представлены основные этапы метаболизма данного витамина - гормона, который в организме человека последовательно проходит несколько этапов гидроксилирования с образованием активной формы 1,25-дигидроксихолекальциферола ($1,25(OH)_2D_3$), принимающей непосредственное участие в регуляции фосфорно-кальциевого обмена и процессов созревания костной ткани [1, 15,16,17,18,19,20] (Рисунок 1).

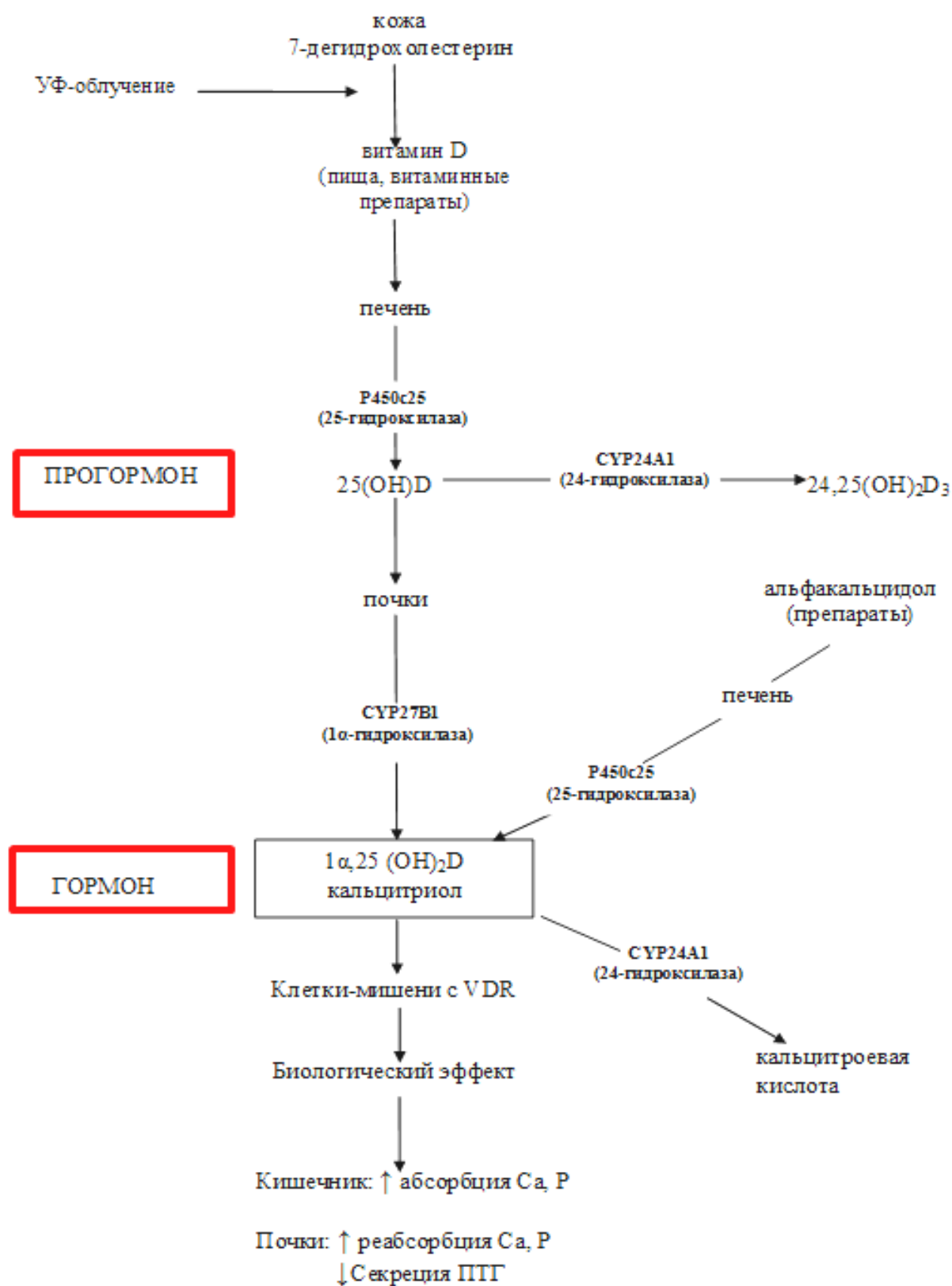


Рисунок 1. Метаболизм витамина D в физиологических условиях.

1.2. Метаболизм и роль витамина D

Витамин D в природе находится в двух формах: эргокальциферол (витамин D₂), синтезируемый в растениях и грибах, и холекальциферол (витамин D₃), который образуется из 7-дегидрохолестерола в коже животных под действием ультрафиолетового излучения ($\lambda=290-310$ нм). В цикле метаболизма витамина D принимают участие ферменты семейства цитохрома P450 (CYP), которые идентичны друг другу на 30-40%: P450c25 (25-гидроксилаза), P450c1 α (1 α -гидроксилаза) и P450c24 (24-гидроксилаза) [18-21] (Рисунок 1).

Первый этап гидроксилирования в положении C-25 витамина D осуществляется в печени посредством микросомальной P450c25. Определение уровня 25(OH)D₃ в крови говорит о насыщенности данным витамином, однако, 25(OH)D₃ обладает минимальной способностью связываться с рецептором витамина D (VDR) и, соответственно, вызывать биологический эффект.

Многие члены семейства цитохрома P450 (CYP), включая CYP2R1, CYP27A1, CYP2D25, CYP2C11, CYP3A4, CYP2D25 и CYP2J1, могут принимать участие в преобразовании витамина D₃ в печени [21,22]. CYP27A1 и CYP2R1 считаются наиболее важными кандидатами на роль 25-гидроксилазы холекальциферола.

В проксимальных извитых и прямых канальцах почек под действием 1 α -гидроксилазы (CYP27B1) проходит заключительный этап гидроксилирования и образование 1,25(OH)₂D₃. Сразу несколькими группам исследователей в 90-х годах удалось выделить P450c1 α мыши, крысы и человека [23-26]. Takeyama с соавт. (1997) доказали участие 1 α -гидроксилазы в синтезе кальцитриола в почечной ткани мышей и обратную регуляцию активности данного фермента при увеличении концентрации

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Fu с соавт. (1997) клонировали и секвенировали P450c1 α из кератиноцитов человека. Ген *CYP27B1* расположен на длинном плече хромосомы 12 (12q14.1) [26], состоит из 9 экзонов, экспрессируется на клетках проксимальных извитых и прямых канальцах почек, экстраренально на клетках иммунной системы (макрофагах, лимфоцитах), парашитовидных и молочных желез, а также раковых клетках [27,28].

Биологическое действие $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ опосредовано через рецепторы витамина D (VDR). VDR принадлежит к суперсемейству ядерных рецепторов (NR), включающему рецепторы ретиноевой кислоты, гормонов щитовидной железы и надпочечников, а также половых стероидов [29]. Ген *VDR* локализован на 12q13.11 и состоит из 11 экзонов. Белок VDR имеет два основных функциональных домена: высоко консервативный NH_2 -терминальный ДНК-связывающий домен (DBD) и гипервариабельный COOH -терминальный лиганд-связывающий домен (LBD) [30] (Рисунок 2).

DBD и LBD соединены между собой посредством «шарнирной» области (CoR). Структурно DBD-домен организован в виде двух цинковых пальцев, каждый из которых содержит по одному атому Zn с четырьмя остатками цистеина. LBD-домен состоит из 12 α -спиралей (H1-H12) с центральным гидрофобным карманом, необходимым для связывания с $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, и 3 β - листа (S1-S3 β -sheet) (Rochel с соавт., 2000).

Пространственные изменения H12-спирали являются критическим этапом при взаимодействии с коактиваторами рецептора (P160, DRIP) [31]. В области LBD-домена имеется автономная зона активации (AF2) - платформа для связывания с корегуляторами рецептора [32]. Взаимодействие VDR с $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ сопровождается гиперфосфорилированием белка VDR с последующими конформационными изменениями и образованием комплекса с ретиноид-X-рецептором альфа

(RXR α) (Orlov I. с соавт., 2012). Итогом данных изменений является формирование гетеродимера 1,25(OH) $_2$ D $_3$ -LBDVDR-RXR α , который в присутствии коактиваторов через DBD-домен взаимодействует с ДНК-витамин D-чувствительными элементами (VDRE) в промоторе генов-мишеней, активируя или блокируя синтез белка [32, 33, 34].

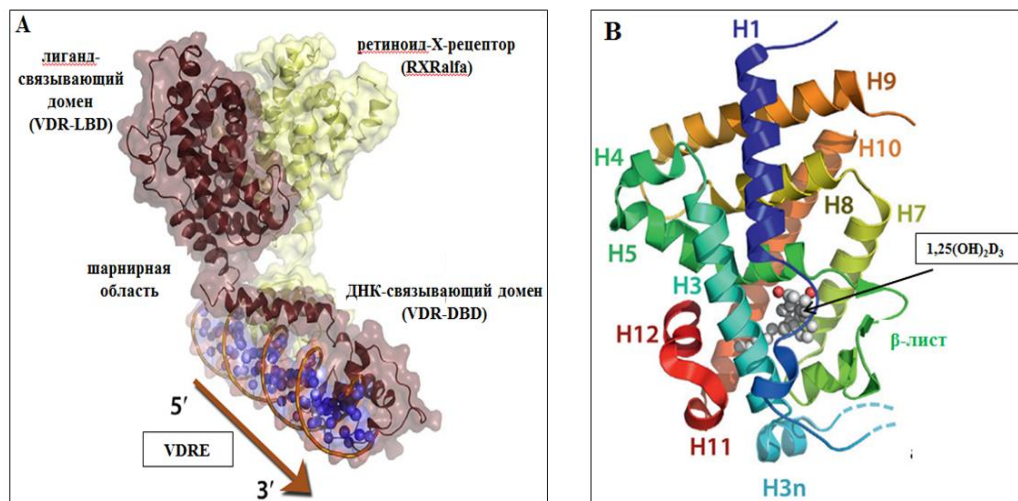


Рисунок 2. Структурная организация рецептора витамина D (VDR). **А**- структурная организация гетеродимера VDR с ретиноид-Х-рецептором (RXR α); стрелкой от 5'- 3'- концу показано взаимодействие VDR с ДНК-витамин D-чувствительными элементами (VDRE). **В** - структурная организация лиганд-связывающего домена VDR (VDR-LBD): H1-H12- α -спирали рецептора, β -лист (Belorusova A., Vitam. Horm., 2016 с изменениями).

Активация VDR на апикальной мембране клеток кишечника приводит к запуску экспрессии следующих генов, участвующих в трансцеллюлярном транспорте Ca: гена апикальных кальциевых каналов (TRPV6), кальций-связывающего белка (кальбиндин-D9k), Ca-АТФазы и др. Результатом этих реакций является увеличение абсорбции кальция за счет прохождения Ca через апикальную мембрану по TRPV6-каналам, затем связывание Ca с кальбиндин-D9k и его перемещение через базолатеральную мембрану

клеток в кровь благодаря работе Са-АТФазы 1b [33,35, 36, 37, 38].

Необходимо отметить, что поглощение Са происходит во всех отделах кишечника, а максимально быстро - в стенке двенадцатиперстной кишки [39, 40].

Предполагается, что и абсорбция фосфора в кишечнике аналогична процессу всасывания кальция [41].

Примерно 65% отфильтрованного Са пассивно реабсорбируется в проксимальных почечных канальцах независимо от $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и только 1-2% экскретируется из организма с мочой. В дистальных канальцах поглощение Са является активным трансцеллюлярным процессом, регулируемым $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и паратгормоном (ПТГ), и напоминает кишечную абсорбцию Са. Основными компонентами транспортной системы Са в почках являются TRPV5-каналы, кальбиндин-D9k и кальбиндин-D28k, натрий-кальциевый насос (NCX1) и Са-АТФаза. В некоторых исследованиях у трансгенных мышей (*суп27b1^{-/-}*) было обнаружено снижение экспрессии мРНК TRPV5, кальбиндин-D9k, кальбиндин-D28k и NCX1, которая была восстановлена при добавлении $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [42,43]. По результатам последних исследований Andrukhova O. и соавт. (2014) можно предполагать, что кроме кальцитриола в регуляции реабсорбции Са в почках принимает участие фактор роста фибробластов 23 (FGF23) через рецептор FGFR1 и в комплексе с корецептором αKlotho посредством воздействия на функциональную активность TRPV5 и экспрессию соответствующего гена [44].

На поверхности клеток костной ткани, а именно остеобластах, также имеются рецепторы витамина D. Известно, что в случае гипокальциемии запускается процесс высвобождения кальция за счет резорбции остеокластами структуры костной ткани через систему VDR-osteoblastы-

RANKL-остеокласты и одновременно блокируется матричная минерализация костей [45,46,47]. Следствием этого является разрастание неминерализованного костного матрикса. Не только остеобласты и остециты, но и хондроциты имеют на своей поверхности VDR, и на модели мышей с *vdr*^{-/-} было показано, что сохранение нормального сигналинга данного рецептора особенно важно во время роста костей, когда присутствует большое количество хондроцитов [48].

В своей работе Ruggiero В с соавт. (2015) доказали решающее значение витамина Д в дифференцировке остеобластов из стромальных клеток костного мозга у детей в возрасте от 8 до 12 лет, обнаружив экспрессию генов VDR, витамин-D-связывающего белка (Megalin), D-гидроксилаз (CYP27B1, CYP27A1, CYP2R1 и CYP24A1) и рецептора эстрогена (ER). Кроме того, авторами были выявлены гендерные различия: как оказалось, у мальчиков экспрессия CYP27B1 и CYP24A1 была достоверно выше, чем у девочек [49]. Результаты проведенного исследования подтверждают аутокринную/паракринную роль кальцитриола в организме человека.

Примерно 80% фосфатов первичной мочи реабсорбируется в проксимальных почечных канальцах, за счет работы натрий-фосфорных котранспортеров (NPT2a и NPT2c, соответственно) [50,51,52]. Регуляция данного процесса осуществляется FGF23, ПТГ и 1,25(OH)₂D₃. Повышенное выведение фосфора при возрастании концентрации ПТГ и FGF23 реализуется следующим образом: ПТГ стимулирует поглощение и лизосомальную деградацию NPT2a/2c- транспортеров [52], в то время как FGF23 снижает их экспрессию [53,54]. В настоящее время механизм работы системы FGF23-FGFR1-αKlotho и регуляция экспрессии генов *NPT2a* и *NPT2c* активно изучается [55,56,57].

Процесс синтеза $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, как и всех других гормональных субстанций в организме, находится под строгим контролем. При возрастании концентрации кальцитриола через VDR запускается процесс обратной отрицательной регуляции [47-61]: подавляется функциональная активность $\text{P450c1}\alpha$ за счет супрессии транскрипции генов *PTH* и *CYP27B1*. Наряду со снижением синтеза $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ повышается процесс его распада за счет активации фермента P450c24 (*CYP24A1*), который присоединяет гидроксильную группу в С-24 положении с образованием неактивных метаболитов (кальцитроевой кислоты; $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и $1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$) [61,62]. Итогом данных реакций является поддержание нормального уровня кальция и фосфора в крови, что необходимо для осуществления основных функций данных минералов в организме человека.

На основании имеющихся данных о метаболизме витамина D в организме человека, принято делить РПЗ на так называемый «кальципенический» и «фосфопенический» варианты в зависимости от того, недостаток какого из двух минералов является ведущим. При этом данные нарушения фосфорно-кальциевого обмена обусловлены не алиментарным дефицитом витамина D, а имеют генетическую детерминированность.

«Кальципенический» вариант РПЗ связан с нарушением этапов гидроксилирования холекальциферола до кальцитриола ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) в результате мутаций гена 25-гидроксилазы (*CYP2R1*) или 1α -гидроксилазы (*CYP27B1*). К данной группе заболеваний относится также снижение чувствительности тканей-мишеней к действию $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в результате дефекта гена рецептора витамина D (*VDR*) [7].

«Фосфопенический» рахит вызван нарушением реабсорбции фосфора в почечных канальцах.

Другой формой РПЗ, которая не связана с нарушениями этапов превращения витамина D, является гипофосфатазия. Для данного заболевания также характерна клиническая картина рахита, при этом маркерами патологии являются парадоксально низкий уровень щелочной фосфатазы, полное отсутствие или значительные изменения в сторону повышения уровня кальция и фосфора в крови. Причина заболевания заключается в дефиците тканенеспецифичной щелочной фосфатазы в результате дефектов гена *ALPL*.

1.3. Гипофосфатазия

Гипофосфатазия (ГФ, Hypophosphatasia) - редкое наследственное нарушение метаболизма, в основе которого лежит снижение активности фермента тканенеспецифичной щелочной фосфатазы (ТНЩФ, TNSALP). Основная функция ТНЩФ заключается в гидролизе монофосфатных эфиров, включая неорганические пирофосфаты (PPi), фосфоэтаноламин (PEA), пиридоксаль-5-фосфат, которые являются физиологическими ингибиторами образования кристаллов гидроксиапатита костного матрикса. Клиническая картина заболевания обусловлена нарушением минерализации костной ткани вследствие накопления пирофосфатов в крови из-за снижения ферментативной активности TNSALP. Дефицит ТНЩФ и, соответственно, нарушение дефосфорилирования пиридоксаль-5-фосфата (основная циркулирующая форма витамина B₆), обуславливает невозможность проникновения витамина B₆ через гематоэнцефалический барьер в головной мозг, где он необходим для синтеза нейромедиаторов [63]. Перинатальная форма ГФ характеризуется практически полным отсутствием минерализации костей скелета, наличием остеохондральных шпор, выступающих через кожу предплечий и ног, значительным укорочением

длинных трубчатых костей, судорожным синдромом (витамин В6-зависимые судороги) [64]. Данная форма имеет высокий риск летальности внутриутробно или в первые месяцы жизни в результате выраженной дыхательной недостаточности из-за гипоплазии легких и биомеханических нарушений акта дыхания из-за рахитических изменений грудной клетки (Whyte M. с соавт., 2006; Shohat M. с соавт., 1991) [65,66]. Ранее в отечественной литературе сообщалось о пренатальной диагностике ГФ на сроке 37 недель гестации у плода с выраженной деминерализацией скелета [67].

Манифестация инфантильной формы ГФ отмечается с первого полугодия жизни, с развитием рахитических деформаций грудной клетки и выраженной мышечной гипотонии, которые обуславливают нарушение дыхания, частые воспалительные процессы в легких, задержку моторного развития. Гиперкальциемия в результате неспособности встраивания ионов кальция в матрикс костей является причиной плохой прибавки в весе, рвоты, склонности к запорам, жажды, полиурии, гиперкальциурии, раннего закрытия большого родничка и швов черепа, что приводит к краниостенозу, и как следствие к повышению внутричерепного давления [68]. Гиперкальциурия способствует развитию и нефрокальциноза. Летальность при данной форме составляет до 50% к первому году жизни (Whyte M, 2016). Детская и взрослая формы имеют более благоприятное течение и характеризуются рахитическими изменениями скелета, низким ростом, болью в мышцах и связках, краниостенозом, формированием долихоцефалической формы черепа, ранним выпадением молочных (до 5 лет) и постоянных зубов, изменением походки («переваливающаяся» походка), хондропатиями или псевдопереломами в результате остеопении и отложения пирофосфата кальция в связках и суставах во взрослом

возрасте [69]. Раннее выпадение зубов обусловлено нарушением формирования цемента зуба [70,71]. Биохимическими маркерами патологии служат умеренно или резко сниженный уровень щелочной фосфатазы, повышение концентрации пиридоксаль-5-фосфата в крови и фосфоэтаноламина в моче, в раннем детском возрасте возможно выявление гиперкальциемии, гиперфосфатемии, снижения паратгормона (Whyte M., 2016).

Для пациентов с наиболее легкой формой, одонтогипофосфатазией, характерно только раннее выпадение зубов или развитие частого кариеса из-за увеличения камер пульпы или корневых каналов, однако, биохимические маркеры заболевания аналогичны как при детской и взрослой формах.

В 1948 году было впервые представлено описание ГФ доктором Rathbun D. (Торонто, Канада) [72]. На настоящее время описано более 300 мутаций *ALPL* гена [69], большинство из которых составляют миссенс-мутации (до 80 %). Наиболее тяжелые формы имеют аутосомно-рецессивный тип наследования, при более легких формах может иметь место и доминантный тип наследования [73,74]. В основной популяции наиболее тяжелые формы ГФ возникают с частотой приблизительно 1:100 000 новорожденных, распространенность более легких форм заболевания в странах Европы оценивается как 1: 6370 живорожденных (Mornet E. с соавт., 2011).

С 1956 года проводился активный поиск наиболее эффективного способа лечения ГФ. Так в терапии пробовали применять глюкокортикоиды, заменное переливание плазмы богатой щелочной фосфатазы от пациентов с болезнью Педжета, пересадку аллогенных мезенхимальных стволовых клеток донора, изолированную остеобласт-трансплантации, рекомбинантный паратгормон, однако все попытки не имели хорошего

эффекта. В настоящее время в качестве лечения ГФ используется ферментозаместительная терапия рекомбинантной тканенеспецифической щелочной фосфатазой, эффективность которой доказана на животных моделях и в клинических испытаниях на людях. В 2012 и 2016 годах Whyte М. с соавт. опубликовали данные по применению данной терапии у детей с высоко летальной перинатальной и инфантильной формами ГФ, которые показали, что выживаемость у пациентов в течение первого года жизни составила 95% на фоне лечения против 42% без терапии [75]. Применение указанного препарата значительно улучшило структуру костей, что оказало положительный эффект на функцию легких и двигательную активность детей.

1.4. Витамин-Д- зависимый рахит (ВДЗР)

Витамин-Д-зависимый рахит, причиной которого могут быть дефекты в генах, кодирующих гидроксилазы ткани печени и почек, а также рецептор витамина D, является относительно редкой наследственной формой рахита.

В 1973 Fraser и соавт. [76] представили первые описания детей с клинической картиной тяжелого рахита, низким уровнем кальция, фосфора в крови и высокой активностью щелочной фосфатазы, нормализации состояния которых удалось достичь при назначении наиболее активной формы витамина D - кальцитриола. Авторами было высказано предположение, что причиной развития рахита послужил блок преобразования $25(\text{OH})\text{D}_3$ в $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. В 90-х годах 20 века несколькими группам исследователей удалось доказать, что дефекты гена *CYP27B1*, кодирующего митохондриальную 1α -гидроксилазу в почках, являются основной причиной развития ВДЗР 1А типа, при котором нарушен синтез кальцитриола [24,25,26]. Ген *CYP27B1* расположен на длинном плече

хромосомы 12 (12q14.1) [28], состоит из 9 экзонов, экспрессируется в клетках проксимальных извитых и прямых канальцах почек, а также экстраренально, отвечая за синтез 1α -гидроксилазы [23]. У трансгенных мышей с гомозиготным дефектом гена *cyp27b1* (*cyp27b1*^{−/−}) биологическая активность P450c1 α практически полностью отсутствовала, они имели рахитические изменения костной ткани, неопределяемые уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, низкое содержание кальция в сыворотке крови и вторичный гиперпаратиреоз [77]. В настоящее время описано более 60 мутаций гена *CYP27B1* (Human Gene Mutation Database, <http://www.hgmd.cf.ac.uk>) [78], большинство из которых представляют миссенс-мутации (61,9%), реже инсерции, делеции, нарушения сплайсинга и нонсенс-мутации [79,80]. Четкой корреляции между степенью снижения активности фермента и тяжестью проявлений заболевания не выявлено [79,81].

Микросомальный CYP2R1 является высококонсервативным ферментом, экспрессируется в печени и в равной степени участвует в 25-гидроксилировании витамина D₂ и D₃. У трансгенных мышей с гомозиготным дефектом гена *cyp2r1* (*cyp2r1*^{−/−}) концентрация $25(\text{OH})\text{D}_3$ была резко снижена, однако синтез 25-гидроксихолекальциферола полностью не нарушен, что предполагает наличие других 25-гидроксилаз [82]. Авторами Casella S. с соавт. (1994) [83] и Cheng J. с соавт. (2004) [2] представлены описания пациентов с манифестацией рахита в раннем детском возрасте и низким уровнем $25(\text{OH})\text{D}_3$, у которых были найдены гомозиготные мутации гена *CYP2R1*. Таким образом, рахит, причиной которого является нарушение 25-гидроксилирования в результате дефицита 25-гидроксилазы, был назван витамин-Д-зависимый рахит 1В типа.

ВДЗР 1А типа, как и ВДЗР 1В типа, относится к редким заболеваниям с аутосомно-рецессивным типом наследования. Распространенность в

популяции данной формы рахита неизвестна. Однако высокая частота обнаружения мутации 958delG гена *CYP27B1* отмечена среди франко-канадского населения провинции Сагене региона Квебека [84]. По сообщениям De Braekeleer (1991) в этой области распространенность ВДЗР 1А типа оценивается 1 на 2358 родившихся, носительство 1 на 26 человек [85].

ВДЗР 2А типа является также редким аутосомно-рецессивным заболеванием, в результате дефектов гена *VDR*, характеризующимся гипокальциемией, гиперпаратиреозом, манифестацией рахита в первые дни или месяцы после рождения и резистентностью органов к $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [1,86]. Дети с данной патологией могут также иметь тотальную или очаговую алопецию [87,88]. В настоящее время известно более 100 случаев генетически верифицированного ВДЗР 2А типа [87]. Клинические проявления заболевания имеют значительную гетерогенность, что может быть обусловлено различной степенью потери чувствительности к действию витамина D.

Большинство детей с ВДЗР 2А типа и алопецией имели мутации *VDR* в DBD-домене, а также дефекты гена, приводящие к преждевременной терминации белка или нарушающие образование гетеродимера (*VDR-RXR*) [1]. Существует гипотеза, что продукт гена *HR* (ген алопеции, *hairless*) выступает в качестве корепрессора при взаимодействии с *VDR*, подавляя его $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -опосредованную трансактивацию, тем самым блокируя экспрессию генов-мишеней, отвечающих за нормальный рост волос [89,90,91].

В сообщении Malloy P. с соавт. (2002) [92] приводят информацию о мужчине, имевшем гомозиготную мутацию E420K гена *VDR*, который имел рахит без алопеции, при этом его мать являлась гетерозиготной

носителем мутации и была клинически здорова. В другом сообщении [93], женщина являлась гетерозиготной носительницей мутации E420A с ранней манифестацией рахита и отсутствием алопеции, ее родной отец имел аналогичный дефект в гетерозиготном состоянии и был здоров. На основании функциональных исследований, проведенных Jurutka P. с соавт. (1997) и Malloy P. с соавт. (2002) было сделано два основных вывода: 1) данные миссенс-мутации нарушают взаимодействие VDR с коактиваторами SRC-1 и DRIP205, необходимое для предотвращения рахита, но которое не требуется для роста волос [93,94]; 2) при ВДЗР 2А типа возможно наличие доминантно-негативного эффекта одного дефектного аллеля гена, которая снижает функциональную активность здоровой аллели *VDR*, обуславливая проявление заболевания у гетерозиготных носителей [94].

Формирование кости в период ее активного роста зависит от слаженности поступления ионов кальция и фосфора и дифференцировки хондроцитов. При различных вариантах ВЗДР в условиях гипокальциемии усиливается резорбция костной ткани [6]. Несколькими группами авторов из США [95,96] и Канады [97] было продемонстрировано, что при достаточном обеспечении поступления кальция у мышей с дефектами в гене *VDR* или *CYP27B1* наблюдалось восстановление нормальной структуры костей. Tiosano D. с соавт. [98], сравнивая пациентов различных возрастных групп с ВДЗР 2А типа, получили следующие результаты: в группе пациентов до 18 лет процент сохранения кишечной абсорбции кальция и показатели минеральной плотности костной ткани были значительно ниже, чем в более старшей возрастной группе. Таким образом, авторами был сделан вывод: кишечная абсорбция кальция в грудном и препубертатном возрасте является витамин-Д-зависимым процессом, поглощение Са в более старшем возрасте уже не имеет такую строгую зависимость от витамина Д.

В исследованиях Donohue M. с соавт. (2002) [99] и Sabbagh Y. с соавт. (2005) [100] было показано, что гипертрофия хондроцитов в зоне эпифиза костей в большей степени обусловлена гипофосфатемией, в условиях которой нарушается процесс апоптоза гипертрофированных хондроцитов.

Что касается лечения ВДЗР 1 типа, то оно заключается в назначении активных форм витамина D, которое способствует полной нормализации фосфорно-кальциевого обмена и редукции костных изменений. Коррекция гипокальциемии часто корректирует гипофосфатемию без необходимости назначения фосфатных добавок [1].

При ВДЗР 2А типа может наблюдаться частичная или полная резистентность к $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Согласно имеющимся данным литературы, некоторые пациенты с ВДЗР 2А типа имели клинические и рентгенологические улучшения на фоне ежедневного применения высоких доз витамина Д, кальцитриола или кальцитриола [1,5,34,92,93]. С другой стороны, Huang K. с соавт. (2013) представили пациента с дефектом в LBD-домене гена *VDR*, приводящим к нарушению контакта *VDR* с $1\alpha\text{-OH}$ группой $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, который не отреагировал на лечение супрафизиологическими дозами витамина Д, кальцитриола и кальцитриола, что потребовало постоянного внутривенного введения кальция с положительным результатом [101]. В сообщении Nguyen T. с соавт. (2002) представлены двое детей от близкородственного брака с гомозиготной мутацией W286R в гене *VDR*, один из которых не реагировал на крайне высокие дозы холекальциферола, кальцитриола, что являлось поводом к назначению инфузии кальция, однако, ребенок умер в возрасте 5 лет по причине необратимого повреждения головного мозга после сепсиса [102].

В старшем возрасте у некоторых пациентов с ВДЗР 1А и 2А типа отмечается спонтанная ремиссия заболевания, когда лечение может быть

полностью прекращено [1,25,103]. В статье Durmaz E. с соавт. (2011) сообщается о ребенке, у которого, несмотря на наличие биаллельных мутаций гена *CYP27B1* и тяжелой гипокальциемии на первом году жизни, в возрасте 11 лет спонтанно произошла нормализация биохимических показателей [104].

Во всех случаях с ВДЗР 2А типа и алопецией, независимо от терапии, нормализации роста волос не отмечается, несмотря на нормальный уровень кальция и исцеление рахита [105].

1.5. Витамин-Д-резистентный рахит (ВДРР)

Анализ имеющихся данных литературы говорит о том, что гипофосфатемический рахит является одним из наиболее распространенных вариантов генетически детерминированных форм нарушений фосфорно-кальциевого обмена. Особенностью данной группы заболеваний является гетерогенность клинической картины, причина которой обусловлена сложностью регуляции обмена фосфора в организме.

Витамин-Д-резистентный рахит (ВДРР) или гипофосфатемический рахит (ГФР) - группа заболеваний, характеризующаяся развитием рахитических изменений костной ткани вследствие повышенного выведения фосфора из организма [3,86] (Рисунок 3). Основными клиническими признаками ГФР являются задержка роста, прогрессирующие деформации ног с момента начала ходьбы, мышечная слабость, боль в костях, позднее прорезывание зубов или их частый кариес и абсцессы. Во взрослом возрасте заболевание может манифестировать в виде нефрокальциноза, кальцификации связок, артрозов крупных суставов, остеопороза [106]; при некоторых формах ГФР описана нейросенсорная тугоухость (Brachet С. с соавт., 2014) [107]. Биохимическими и гормональными маркерами ГФР

служат гипофосфатемия на фоне гиперфосфатурии, повышение активности ЩФ, нормальный или умеренно повышенный уровень ПТГ при нормокальциемии (Raeder Н. с соавт., 2011). Концентрация $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в сыворотке крови и степень кальциурии варьируют и зависят от молекулярной основы заболевания [108].

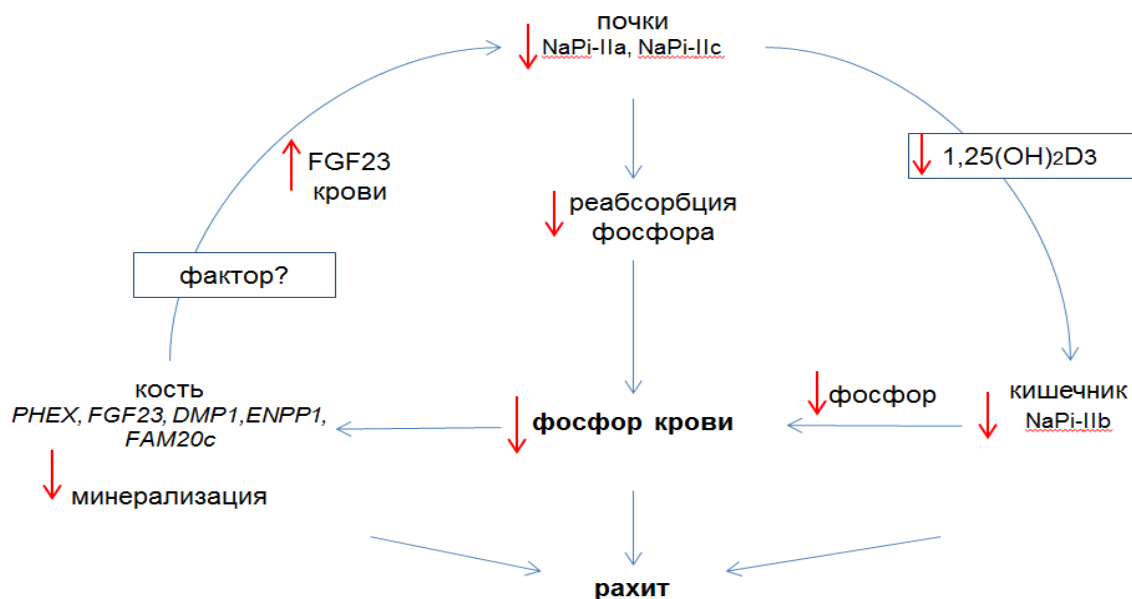


Рисунок 3. Схематичное изображение механизма развития наследственного гипофосфатемического рахита. *PHEX*, *FGF23*, *DMP1*, *ENPP1*, *FAM20c* – гены, экспрессирующиеся в костной ткани и, мутации в которых являются причиной развития ГФР. FGF23 - фактор роста фибробластов 23. NaPi-IIa, IIc, IIb - натрий-фосфорные котранспортеры типов IIa, IIb, IIc; $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ - кальцитриол; красная стрелка- повышение, снижение.

По типу наследования различают несколько форм ГФР.

- **X - сцепленный доминантный ГФР** (X-linked hypophosphatemia, XLH)

Данная форма ГФР имеет наибольшую распространенность, частота встречаемости которой составляет 1:20 000 родившихся [106,108]. Причиной развития заболевания являются инактивирующие мутации в гене

PHEX. По последним данным в мире описано более 300 различных дефектов гена *PHEX* [109].

Ген *PHEX* (фосфат-регулирующий ген с гомологией к эндопептидазам на X-хромосоме; Phosphate regulating gene with Homology to Endopeptidases located on the X chromosome) состоит из 22 экзонов, кодирует белок из 749 аминокислот, обладающий на 60-70% структурным и функциональным сходством с ферментами семейства M13 металлопептидаз, к которым относятся нейтральная эндопептидаза (NEP), эндотелин-превращающие факторы 1 и 2 (ECE-1 и ECE-2) и Kell- антиген [110]. Указанные белки являются мембранными гликопротеинами, принимающие участие в расщеплении пептидных гормонов. В структуре пептидаз выделяют короткий N-концевой фрагмент, гидрофобный трансмембранный домен и большой С-внеклеточный домен с двумя Zn-связывающими мотивами и консервативными цистеиновыми остатками, данный участок белка играет роль каталитического центра [110,111,112]. В работе Sabbagh с соавт. (2003) было показано, что при дефекте в Zn-связывающей участке фермента белок становится менее устойчив к гликозилированию, быстрее подвергается внутриклеточной деградации и тем самым теряет способность встраиваться в плазматическую мембрану. Белок *PHEX* содержит 10 высококонсервативных остатков цистеина, которые необходимы для формирования структуры белка и его каталитической активности [110]. Дефекты гена *PHEX* в 18, 21 и 22 экзонах, ведущие к потере цистеиновых остатков, нарушают вторичную структуру белка или его функциональную активность из-за потерь дисульфидных связей [113,114].

Экспрессия гена *PHEX* выражена на остеобластах, одонтобластах, клетках яичников, легких, паращитовидных желез, мозга и мышц, но отсутствует в почках [115,116,117]

Первоначально считалось, что продукт гена *PHEX* принимает участие в деградации фосфотонина FGF23. В большинстве случаев при инактивации гена *PHEX* концентрация FGF23 в крови возрастает, что приводит к снижению экспрессии генов натрий-фосфорных котранспортеров 2 типа (NaPi-IIa и NaPi-IIc, кодируемые генами *SLC34A1* и *SLC34A3*, соответственно). Котранспортеры в проксимальных почечных канальцах регулируют реабсорбцию фосфора, снижение их числа и активности ведет к потере этого элемента из организма. FGF23 также подавляет активность 1 α -гидроксилазы (CYP27B1), участвующей в образовании кальцитриола и, наоборот, активирует 24-гидроксилазу (CYP24A1), превращающей кальцитриол в неактивные метаболиты [118,119].

Внутриклеточный фосфат принимает участие в аккумуляции энергии в виде АТФ, является неотъемлемой частью молекул ДНК и РНК, а также субстратом для работы киназ и фосфатаз в клетке; внеклеточный фосфат необходим для построения кристаллов гидроксиапатита костного матрикса. Следствием хронической недостаточности фосфора является нарушение минерализации костей и развитие рахита.

Несмотря на то, что гены *PHEX* и *FGF23* экспрессируются на остеобластах, исследования на мышах HYP (модель ГФР человека) не смогли подтвердить прямое взаимодействие продуктов данных генов [120,121,122]. Предполагается, что существует промежуточный фактор в данной системе, который пока неизвестен (Рисунок 3) [123].

В литературе имеются сообщения о пациентах с сочетанием дефектов гена *PHEX* с мутациями в генах *DMP1*, *FGF23* [124]. Razali N. с соавт. (2015) демонстрируют клинический случай с ГФР, где у девочки одновременно были обнаружены дефекты генов *PHEX*, *DMP1* и *FGF23* [125].

• **X - сцепленный рецессивный ГФР с гиперкальциурией (X-linked recessive hypercalciuric hypophosphataemic rickets)**

X-сцепленный рецессивный ГФР с гиперкальциурией или болезнь Дента - редкое наследственное заболевание, характеризующееся дисфункцией проксимальных почечных канальцев в виде низкомолекулярной протеинурии (НМП), гиперкальциурии, фосфатурии, с развитием нефрокальциноза/мочекаменной болезни, прогрессирующей почечной недостаточности и рахита. По литературным данным, частота диагностики основных признаков патологии представлена следующим образом: НМП - 100%, гиперкальциурия - 95%, нефрокальциноз - 74%, рахит или остеомаляция - 30%, почечная недостаточность - 64%, аминокацидурия - 76%, глюкозурия - 54%, гипофосфатемия - 50 %, аминокацидурия - 17% [126].

Болезнь проявляется у пациентов мужского пола. У мужчин в возрасте 3-5 лет развивается почечная недостаточность, которая достигает терминальной стадии к 30-40 годам. Как правило, женщины являются бессимптомными носительницами заболевания, в редких случаях могут иметь НМП и гиперкальциурию (Scheinman S. с соавт., 1999).

Болезнь Дента имеет генетическую гетерогенность: примерно 50-60% пациентов носители мутации гена *CLCN5* (болезнь Дента 1), около 15%-дефектов гена *OCRL1* (болезнь Дента 2), а остальные 25-35% не имеют поломок в этих генах, но, возможно, несут дефекты других генов [127].

Ген *CLCN5* локализован на хромосоме Xp11.22, состоит из 12 экзонов и кодирует белок хлорпроводящего ионного канала-5 (CLCN-5) [128]. Указанный ген экспрессируется на клетках проксимальных почечных канальцев. В структуре белка CLCN5 имеется 12 трансмембранных доменов, формирующие поры. Данный канал является ведущим «Cl-

шунтом», через который происходят процессы ацидификации и рецептор-опосредованная реабсорбция в канальцах почках [127,129].

К настоящему времени зарегистрировано более 250 пациентов с синдромом Дента и описано 174 различных типов мутаций гена *CLCN5* [130]. Более половины известных дефектов гена приводят либо к полному отсутствию белка, либо к его функциональной недостаточности (Mansour-Hendili L. с соавт., 2015).

Известно, что до 80% фосфора реабсорбируется из первичной мочи, при этом процесс обратного всасывания фосфора происходит только при условии одновременной реабсорбции натрия (т.е. 2 иона Na^+ на 1 ион фосфата). При X-сцепленном ГФР в результате дефекта работы *CLCN5* гиперфосфатурия обусловлена недостаточным поступлением ионов Cl^- в клетки и недостаточным образованием H^+ , необходимого для обмена на ионы Na^+ . Увеличение концентрации ПТГ в проксимальных канальцах при инактивации гена *CLCN5* является причиной снижения экспрессии NaPi-IIa . Таким образом, нарушается реабсорбция фосфатов, с последующим развитием гипофосфатемии и клинической картины рахита.

Помимо тяжелого поражения почек с прогрессирующим снижением азотовыделительной функции, для пациентов с рецессивным X-сцепленным ГФР характерно наличие гиперкальциурии и высокого уровня $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в крови, в отличие от больных с доминантным X-сцепленным ГФР.

Гиперкальциурия обусловлена нарушением реабсорбции ионов Cl^- , а также вследствие гиперпродукции кальцитриола при избыточной активации 1α -гидроксилазы ПТГ. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ стимулирует всасывание кальция в кишечнике и увеличение его концентрации в сыворотке крови может косвенно привести к гиперкальциурии и нефрокальцинозу [131].

• **Аутосомно - доминантный ГФР** (Autosomal dominant hypophosphatemic

rickets, ADHR)

Аутосомно-доминантный ГФР (АД ГФР) - редкий генетически обусловленный вариант ВДРР, характеризующийся клиникой рахита с возможно более поздней манифестацией, гипофосфатемией, гиперфосфатурией и неадекватно низким или нормальным уровнем $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [132-134]. Bianchine J. и соавт. в 1971 году впервые описали семейный случай ГФР с аутосомно-доминантным типом наследования [132].

По современным данным, причиной данной формы ВДРР являются точковые миссенс-мутации в гене фактора роста фибробластов 23 (fibroblast growth factor-23; FGF23), которые изменяют аминокислотную последовательность в участке белка с основания 176 по 179, где находится аргинин. Два аргинина формируют участок протеина - RXXR-мотив, и дефекты его строения обуславливают невозможность узнавания протеазой RXXR-мотива, что в результате приводит к нарушению деградации белка и увеличению концентрации активного FGF23 в крови [135,136].

У нормальных мышей и здоровых людей, уровень циркулирующего FGF23 поднимается и опускается параллельно поступлению фосфора с пищей, обеспечивая в нормальном диапазоне фосфор крови независимо от его приема [137,138]

FGF23 считается основным фосфотонином: в комплексе с рецептором FGFR1 и αKlotho увеличивает клиренс фосфатов в почках за счет снижения натрий-фосфорных котранспортеров и подавления активности 1α -гидроксилазы [132]. В исследованиях у трансгенных мышей с fgf23^{tg} имелась гиперфосфатемия и повышение уровня $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. При введении здоровой группе мышей блокирующих антител к fgf23 , отмечалась нормализация уровня фосфора и кальцитриола, что подтвердило важную роль данного фактора в регуляции фосфорного гомеостаза [54,139].

Клинические проявления АД ГФР аналогичны тем, которые наблюдаются при X-сцепленном доминантном ГФР. АД ГФР характеризуется неполной пенетрантностью и экспрессивностью. Имеются сообщения о нормализации почечной реабсорбции фосфора у некоторых пациентов после периода полового созревания [133,135].

По данным литературных источников отмечена взаимосвязь между концентрацией FGF23 в крови и уровнем железа. В частности, низкий уровень железа крови у пациентов с АД ГФР значительно коррелирует с более высокими концентрациями FGF23 [140,141]. Данные выводы дают основания предполагать наличие новых механизмов регулирования FGF23.

Гиперпродукция FGF23 мезенхимальными клетками является основной причиной развития приобретенного состояния - опухоль-индуцированной остеомалации (Tumor-induced osteomalacia, TIO), сопровождающегося тяжелой клиникой ГФР [142]. Collins M. с соавт. (2015) представили клинический случай с опухоль-индуцированной остеомалацией и множественными метастазами, при этом у пострадавшего пациента гиперпродукция FGF23 была связана с наличием в ткани опухоли транслокации между генами *FGFR1* (ген рецептора 1 фактора роста фибробластов) и *FNI* (ген фибронектина 1), которые принимают участие в сигнальном пути канцерогенеза [143].

Avitan-Hersh E. с соавт. (2014) представили описание пациента с эпидермальным невусом вдоль линий Блашко, ГФР, полиоссальной кистозно-фиброзной дисплазией костей и тимомой, при обследовании было выявлено повышение интактного FGF23 в сыворотке крови, молекулярно-генетическое исследование показало наличие мутации гена *HRAS* [144]. Таким образом, диагноз пациента звучал как «Синдром эпидермального невуса» (Epidermal nevus syndrome), данное заболевание также имеет

FGF23-опосредованный механизм развития.

- **Аутосомно - рецессивный ГФР** (Autosomal recessive hypophosphatemic rickets, ARHR)

Аутосомно-рецессивный ГФР (АР ГФР) вызван инактивирующими мутациями в гене, кодирующем белок матрицы дентина 1 (*DMP1*), или гене эктонуклеотид/пирофосфатазы- фосфодиэстеразы 1 (*ENPP1*).

Stamp с соавт. (1976) впервые представили описание двух детей, с тяжелым течением ГФР, особенностью их клинической картины было наличие сенсоневральной глухоты из-за склероза внутреннего слухового канала, а также аутосомно-рецессивный тип наследования патологии. Позднее Lorenz-Depiereux с соавт. (2006) [145] сообщили о нескольких семьях, в которых члены имели ГФР, высокий уровень FGF23, повышенную плотность различных костей скелета (черепа, ключиц, ребер) и ярко выраженную энтезопатию. Эти пациенты являлись носителями гомозиготных мутаций гена *DMP1*, а ГФР с дефектом этого гена был назван аутосомно-рецессивный ГФР 1 типа [145,146,147].

В 2010 году Lorenz-Depiereux с соавт. провели крупное исследование, в ходе которого из 60 пробандов с АР ГФР в 4 семьях удалось обнаружить гомозиготные мутации гена *ENPP1*. Таким образом, ген *ENPP1* стал четвертым после *PHEX*, *FGF23*, *DMP1*, а заболевание в результате мутаций этого гена было классифицировано как аутосомно-рецессивный ГФР 2 типа [148]. Предшествовало цитируемому исследованию сообщение Rutsch F. с соавт., в котором была представлена семья, где одна и та же мутация гена *ENPP1* была ассоциирована с развитием АР ГФР у отца и с младенческой генерализованной артериальной кальцификацией у самого ребенка [149]. Известно, что продукт гена *ENPP1*- пирофосфатаза- играет основную роль в синтезе внеклеточного пирофосфата, который ингибирует образование и

осаждение кристаллов гидроксиапатита в костном матриксе. Дефекты указанного гена, приводящие к потере функции фермента, являются причиной избыточной васкулярной кальцификации из-за дефицита пирофосфата [145]. Механизм, по которому развиваются противоположные патологические состояния, еще предстоит открыть.

• **Аутосомно - рецессивный ГФР с гиперкальциурией** (Hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria, HHRH)

Tieder M. с соавт. в 1985 году представили первое описание ГФР с гиперкальциурией в семье бедуинов, в которой у 6 членов семьи имелась клиническая картина рахита. Отличительной особенностью данного варианта ГФР является наличие гиперкальциурии и повышенное содержание $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в крови при низком уровне ПТГ. Высказывалось предположение о том, что потеря фосфора с мочой является основным механизмом, который влияет на гиперэкспрессию почечной 1α -гидроксилазы с последующим увеличением в крови $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [150]. Следствием повышения концентрации кальцитриола является усиление поглощения кальция в кишечнике с развитием гиперкальциемии и гиперкальциурии, соответственно. Lorenz-Depiereux B. с соавт. (2006) в ходе проведенного исследования у 6 пациентов из 5 семей, которые имели ГФР с гиперкальциурией, обнаружили гомозиготные, компаунд-гетерозиготные и гетерозиготные мутации гена *SLC34A3* [151].

Ген *SLC34A3* картирован на хромосоме 9q34, экспрессируется на апикальной мембране клеток проксимальных почечных канальцев (Segawa H. с соавт., 2002), отвечая за синтез натрий-фосфорного котранспортера Пс типа (альтернативное обозначение NaPi-Пс или Npt2c) [152]. В исследованиях Tenenhouse с соавт. (2003) на мышях Нур было показано уменьшение количества NaPi-Пс, что свидетельствует о его участии в

процессе реабсорбции фосфора в почках [153]. Котранспортеры почечных канальцев тесно связаны между собой, было подсчитано, что активность SLC34A1 (Npt2a) составляет около 70% - 80% в транспортной системе апикальных мембран (Murer H. с соавт., 2004) [154], значительная часть оставшейся функциональной активности связана с SLC34A3. Предполагается, что Npt2a и Npt2c принимают участие в системе регуляции взаимодействий между PHEX и FGF23, так как снижение в почках экспрессии генов *Slc34a1* и *Slc34a3* было отмечено у мышей с активирующими мутациями *fgf23* и в модели Нур (Strom T. с соавт., 1997; Quarles LD. с соавт., 2011). Факт усиления активности 1 α -гидроксилазы в ответ на низкий уровень фосфора в крови при инактивации гена *SLC34A3* подчеркивает, что первичных дефект различных форм ГФР связан с нарушениями почечной реабсорбции фосфора, а не с дефектом синтеза 1,25(OH) $_2$ D $_3$.

Клинические проявления рахита при данном заболевании могут быть умеренными, либо полностью отсутствовать или манифестировать в более старшем возрасте. Ichikawa S. с соавт. (2014) представили пациента, который был обследован в возрасте 6 лет по причине гематурии, почечной колики и дизурии, в результате были выявлены гиперкальциурия, повышение уровня 1,25(OH) $_2$ D $_3$ при низконормальном показателе ПТГ в крови, а также гипофосфатемия. Несмотря на наличие гипофосфатемии, клинические и рентгенологические признаки рахита у пациента отсутствовали. Молекулярно-генетический анализ показал наличие составной гетерозиготной мутации гена *SLC34A3*. Терапия данного пациента включала в себя прием препаратов фосфора [155].

Точная диагностика ГФР с гиперкальциурией имеет важное терапевтическое значение. В отличие от других форм ГФР, при данном

варианте назначение только солей фосфора может привести к полной ремиссии заболевания, в то время как добавление нативных или активных форм витамина D может вызвать развитие осложнений, таких как гиперкальциемия, нефрокальциноз и мочекаменная болезнь.

В 2016 году было опубликовано интересное сообщение Lal D. с соавт., в которой у членов семьи от близкородственного брака имелось сочетание ГФР и врожденной миопатии. В представленной семье двое пациентов с наиболее тяжелой клинической картиной, обусловленной дыхательной недостаточностью и трудностями в передвижениях на фоне мышечной гипотонии, имели ГФР с гиперкальциурией, при генетическом исследовании методом высокопроизводительного секвенирования у них были обнаружены гомозиготные мутации в генах *SLC34A3* и *SEPNI* [156]. Данный клинический пример демонстрирует возможность наличия двух крайне редких заболеваний, вероятность возникновения которых увеличивается в семьях близкородственных браков, и точность генетической диагностики данных состояний повышается при использовании методов, позволяющих анализировать несколько генов одновременно.

1.6. Другие формы ГФР

В 2013 году Rafaelsen S. с соавт. представили описание двух братьев из Норвежской семьи с характерными для синдрома Рейна фенотипическими особенностями (долихоцефалия, утолщение затылочной кожной складки, узкая глазная щель, стеноз хоан, низко посаженные уши, утолщение дистальных фаланг всех пальцев кистей, двусторонняя клинодактилия пятых пальцев, вдавленная переносица, микрогнатия, маленький рот, гиперплазия десен, аркообразное небо, узкая грудная клетка), манифестация заболевания которых характеризовалась развитием абсцессов зубов с 1 и 2,5

лет, в дальнейшем у них были выявлены лабораторные признаки ГФР, рентгенологически - остеосклероз длинных трубчатых костей, по данным компьютерной томографии — множественные мозговые кальцинаты. В возрасте 18 лет у представленных пациентов зубы полностью отсутствовали, интересно, что в постпубертатном периоде уровень фосфора крови нормализовался [157]. Генетический анализ показал наличие компаунд-гетерозиготной мутации гена *FAM20C* (или *DMP4*). Указанный ген относится к семейству генов с соответствующей последовательностью, к которым относятся также *FAM20A* и *FAM20B* (family with sequence similarity 20, member A, B, C), кодирующие киназы [158].

Нао J. с соавт. (2007) на культуре клеток показали, что DMP4 принимает участие в дифференцировке мезенхимальных одонтобластоподобных клеток, являясь растворимым регулятором минерализации дентина. Работа киназы FAM20c связана с процессом фосфорилирования казеина, остеопротегерина, DMP1 и MEPE [159]. Vogel P. с соавт. (2012) обнаружили у мышей с *fam20c*^Δ гипофосфатемию, повышение активности ЩФ и уровня fgf23. Развитие ГФР в данном случае, возможно, вызвано нарушением регуляции fgf23 в отсутствие фосфорилирования dmp1 [160].

Инактивирующие мутации гена *FAM20C* - причина смертельного остеосклеротического поражения костей (синдром Рейна; Raine syndrome). Данный синдром имеет аутосомно-рецессивный тип наследования и характеризуется генерализованным остеосклерозом с периостальным разрастанием костной ткани, отложением солей кальция в ткани головного мозга, характерным фенотипом лица и гипоплазией легких. Большинство описанных случаев заболевания закончились летальным исходом в первые недели или месяц жизни. При более «мягком» фенотипе имеет место

развитие ГФР [158,161].

Сбалансированные транслокации между хромосомами 13 и 9 в месте локализации гена *α -Klotho (KL)*, ведущие к увеличению циркулирующего α Klotho и FGF23, - причина развития ГФР с гиперпаратиреозом, гиперкальциемией и низким уровнем $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [162].

В литературе имеются единичные сообщения о развитии ГФР в результате дефекта генов *FGFR1* (Fibroblast growth factor receptor 1) и *SLC9A3R1 (NHERF1)*. В статье White K. с соавт. (2005) [163] трое пациентов с гипофосфатемией и фенотипическими признаками остеоглофонической дисплазии (Osteoglophonic dysplasia), а именно краниостенозом, вдавленной спинкой носа, гипоплазией верхней челюсти, гипертрофией надбровных дуг, брахидактилией и карликовостью, являлись носителями гетерозиготной мутации Y372C гена *FGFR1*.

Пациенты с гетерозиготными мутациями гена *NHERF1* имели гипофосфатемию, гиперфосфатурию, признаки мочекаменной болезни на фоне нормального или сниженного уровня ПТГ и кальция крови, кроме того, у некоторых отмечалось снижение минеральной плотности костной ткани (МПКТ), уровень $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у всех пациентов был чуть выше нормы. Исследования *in vitro* показали, что при мутациях гена *SLC9A3R1* усиливается ПТГ- и цАМФ-зависимое ингибирование транспорта фосфора в почечных канальцах или нарушается стабильность NaPi-IIa , что во всех случаях приводит к почечной потере фосфатов [164].

Синдром Фанкони (Fanconi's syndrome) является наиболее тяжелым проявлением дисфункции почечных канальцев, при котором нарушается реабсорбции фосфатов, кальция, калия, глюкозы, аминокислот и белков. По литературным данным, данное заболевание может быть обусловлено дефектами в генах *SLC34A1* [165], *EHHA1* [166] и др.

Приложение 1 (Таблица 11, стр. 139) диссертации содержит общую информацию о всех наследственных формах рахита.

1.7. Терапия при витамин-Д-резистентном рахите

Общепринятой на сегодняшний день схемой лечения пациентов с наследственными формами ГФР является назначение солей фосфора в сочетании с альфакальцидолом или кальцитриолом. Цель данной терапии заключается в предотвращении прогрессии деформации костей, улучшении динамики роста и состояния зубов, а также в уменьшении проявления мышечной гипотонии [106].

В качестве дополнительной терапии при выраженной задержке роста ($-2,4$ SD) рассматривалось применение рекомбинантного гормона роста (pГР), однако значимого улучшения динамики роста у пациентов не отмечалось, а улучшение реабсорбции фосфора на фоне pГР было краткосрочным [106,167,168]. Необходимо отметить, что терапевтический ответ на лечении солями фосфора ограничен по причине возникновения частых побочных явлений, а именно диспептических расстройств (тошнота, рвота, диарея), развития нефрокальциноза и вторичного гиперпаратиреоза [106]. Многократный ежедневный прием (до 5-6-8 раз в сутки) солей фосфора снижает комплаентность пациентов. Данные особенности, а также то, что был подтвержден FGF23-опосредованный механизм развития некоторых форм ГФР, привели к созданию нового препарата моноклональных антител к FGF23 (AT-FGF23) [169]. В течение последних 5 лет ведутся клинические испытания данного средства: так, среди взрослой когорты пациентов с X-сцепленным доминантным ГФР отмечены нормализация уровня фосфора крови, улучшение структуры костной ткани и уменьшение проявления мышечной слабости на фоне

использования AT-FGF23 [170,171]. Промежуточные результаты применения AT-FGF23 у детей с аналогичной формой рахита также подтверждают эффективность терапии.

Анализ отечественных и зарубежных литературных источников показал, что изучение клинико-лабораторных и молекулярно-генетических характеристик наследственных форм рахита является до настоящего времени актуальным вопросом современной эндокринологии, педиатрии, нефрологии и ортопедии. В большинстве случаев, неспецифичность и гетерогенность симптомов данной группы заболеваний должны настораживать врачей на предмет проведения более углубленной диагностики нарушений фосфорно-кальциевого обмена.

Несмотря на достаточно изученный патогенез различных врожденных форм рахита, алгоритмы ведения данной группы больных требуют усовершенствования.

В отличие от алиментарного рахита, методом лечения которого на сегодняшний день является возмещение дефицита витамина Д, терапевтическая тактика в отношении пациентов с РПЗ неоднозначна. У пациентов с тяжелыми формами ГФ в течение последних нескольких лет с высокой эффективностью применяется фермент-заместительная терапия рекомбинантной ТНЩФ, при этом любые препараты кальция или витамина Д противопоказаны. В терапии ВДЗР с успехом используются гидроксилированные формы витамина Д. Наиболее сложные и не до конца решены вопросы тактики и способы лечения пациентов с ВДРР. Результаты терапии препаратами фосфора в сочетании с активными формами витамина D не позволяют говорить о ее высокой эффективности, а новые методы

находятся на стадии испытаний. В России труднодоступность препаратов фосфора усложняет схему лечения пациентов с ГФР и не позволяет провести собственный анализ эффективности применения данных препаратов.

Таким образом, отсутствие четких клинико-гормональных критериев, данных по молекулярно-генетическим характеристикам наследственных форм рахита в российской популяции и рекомендаций по тактике ведения пациентов с врожденными формами рахита побудило нас провести данное исследование.

ГЛАВА II

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика исследуемых пациентов

Первичному осмотру и отбору были подвержены 150 пациентов от 0 до 54 лет с наличием рахитических деформаций скелета, обратившиеся с различными направляющими диагнозами, такими как: «Рахит», «Фосфат-диабет», «Метафизарная хондродисплазия», «Болезнь Блаунта» и другие.

Обследование и ведение пациентов осуществлялось на базе Института детской эндокринологии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (директор – член - корр. РАН, профессор Петеркова В.А.) и отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (заведующий отделением - д.м.н. Тюльпаков А.Н.). В обследовании и ведении пациентов принимали участие сотрудники отделения травматологии и ортопедии ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗ» г. Москва (заведующий отделением - к.м.н. Петров М.А.), травматолого-ортопедического отделения № 6 ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова МЗ России, г. Курган (заведующий отделением - Гофман Ф.Ф.), отделения патологии стопы, нейроортопедии и системных заболеваний НИДОИ им. Г.И. Турнера МЗ РФ г. Санкт-Петербург (заведующий отделением - д.м.н. Кенис В.М.) в период 2012 - 2016 гг..

После получения информированного согласия всем 150 пациентам на первом этапе исследования проводилось клинико-лабораторное (биохимический анализ крови и мочи, гормональный профиль) и

инструментальное (рентгенография трубчатых костей, ультразвуковое исследование почек) обследование.

Критериями включения в последующее исследование были:

1. Манифестация клинических признаков рахита в возрасте 0 до 5 лет (рахитические деформации скелета, мышечная гипотония, задержка моторного и физического развития, судороги, алопеция, патология зубов);
2. На фоне клинической картины рахита наличие изменений показателей минерального обмена в крови, а именно: низкий уровень кальция и/или низкий уровень фосфора, повышение или снижение активности щелочной фосфатазы, повышение или снижение уровня паратгормона;
3. Наличие изменений биохимических показателей в моче: гиперкальциурия, гиперфосфатурия;
4. Наличие рентгенологических признаков рахита;
5. Возможно, наличие у одного из родителей аналогичной клинической картины заболевания.

Критерии исключения из исследования:

1. Отсутствие изменений показателей кальция, фосфора, активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови у пациентов с рахитическими деформациями скелета;
2. Клиническая картина рахита на фоне терапии высокими дозами противосудорожных средств, длительной иммобилизации;
3. Клиническая картина рахита на фоне основного заболевания: тирозинемия, синдром де Тони – Дебре — Фанкони.

Данным критериям удовлетворяли 100 пациентов из 150, среди

которых было 86 пробандов и 14 родителей обследуемых. При осмотре и сборе анамнеза выяснилось, что у всех 100 пациентов манифестация рахита приходилась на возраст от 0 до 5 лет, медиана возраста дебюта заболевания составила 1,2 года [0,9;1,4]; 58 человек (58%) были лицами женского пола, 42 пациента (42%) - мужского. Соотношение лиц мужского и женского пола было практически равным и составило 1:1,3.

Медиана возраста детей (возраст до 18 лет), вошедших в исследование, составила 6 лет [2;11], медиана возраста обследуемых из старшей возрастной группы (старше 18 лет) - 28 лет [25;33].

По результатам лабораторного и инструментального обследования 100 пациентов нами были диагностированы следующие формы РПЗ: основную группу - 92 человека - составили пациенты с гипофосфатемическим рахитом (ГФР), у 5 пациентов выявлен витамин-Д-зависимый рахит (ВДЗР), у 3- гипофосфатазия (ГФ).

Всем 100 пациентам для подтверждения диагноза проводилось молекулярно-генетическое исследование генов-кандидатов.

Учитывая малую численность пациентов с ВДЗР и ГФ, результаты статистического анализа клинико-лабораторных показателей, а также оценка корреляции генотип-фенотип продемонстрированы на группе пациентов с ГФР - основная группа пациентов (n=92).

Из 92 пациентов с ГФР количество лиц женского и мужского пола было практически равным: 52 и 40 пациента соответственно. Семейная форма ГФР была диагностирована у 48 пациентов (в 52% случаев), спорадическая форма - у 44 обследуемых (в 48% случаев).

Для оценки выраженности метаболических изменений пациенты с

ГФР были разделены по полу, для определения корреляции фенотип-генотип - по полу и по типу найденных мутаций (мутации, приводящие к преждевременной терминации белка или мутации без формирования стоп-кодона).

В ходе нашей работы была также оценена эффективность различных методов лечения ГФР.

При анализе эффективности оперативных методов лечения, пациенты с ГФР были разделены на 2 группы по количеству проведенных коррегирующих остеотомий в анамнезе:

1 группа — пациенты, перенесшие от 2 до 4 коррегирующих остеотомий (n= 20);

2 группа — пациенты, перенесшие более 4 коррегирующих остеотомий (n= 23);

При оценке эффективности консервативной терапии пациенты с ГФР были разделены на 2 группы с учетом возраста начала терапии:

1 группа — старт терапии до 3 лет (n=11);

2 группа — старт терапии старше 3 лет (n=17).

Анализ эффективности проводимой терапии проводился по результатам динамического наблюдения, длительность которого составила от 1 до 3 лет. При повторных обследованиях на фоне лечения проводилось исследование динамики роста пациента, оценка прогрессии деформаций скелета, а также лабораторная диагностика с определением основных параметров кальций-фосфорного обмена.

2.2. Клинические и лабораторные методы исследования

Клинико-лабораторное обследование пациентов включало в себя:

- сбор анамнеза жизни, анамнеза заболевания, изучение семейного анамнеза и построение генеалогического дерева;
- клинический осмотр по стандартной методике, антропометрию (в т.ч. измерение верхнего и нижнего сегмента туловища); расчет стандартного отклонения (SDS) роста проводился с помощью приложения Auxology (Munich Auxology Project, Kromeyer-Hauschild et al., 2001);
- лабораторные исследования проводились на базе лаборатории биохимического анализа ФГБУ ЭНЦ (заведующий - Ильин А.В.).

Лабораторная диагностика включала в себя определение следующих показателей: кальций общий (Ca), фосфор (Ph), щелочная фосфатаза (ЩФ), креатинин в сыворотке; Ca, Ph и креатинин в моче (разовой и суточной порции), которые определялись на биохимическом анализаторе Architect с8000 (Abbott, США), уровень Ca ионизированного в цельной крови измерялся ионоселективным методом на анализаторе Easylyte (Medica, США). Уровень интактного паратгормона (ПТГ) в сыворотке крови исследовался методом усиленной электрохемилюминисценции на анализаторе Cobas 6000 (Roche, Германия).

Уровни исследуемых показателей оценивались с учетом нормативных значений для каждого возрастного периода, приведенных для каждого из методов.

Показатели тубулярной реабсорбции фосфатов (TRP, TmP/GFR) и экскреции кальция (кальций/креатининовый индекс) вычислялись по специализированным формулам.

$$\% \text{ TRP} = 100 \times [1 - ((\text{Uph} / \text{UCr}) \times (\text{PCr} / \text{Pph}))],$$

где Pph- фосфаты плазмы (ммоль/л), PCr - креатинин плазмы (ммоль/л), Uph- фосфаты в моче (ммоль/л), UCr- креатинин в моче (ммоль/л).

Нормальные значения TRP считались 85-95%.

Максимальная реабсорбция фосфатов к СКФ (TmP/GFR, ммоль/л) вычислялась по формулам, выбор которых зависел от показателя TRP:

- если $\text{TRP} \leq 0,86$ (86%):

$$\text{TmP/GFR} = \text{TRP} \times \text{Pph}.$$

- если $\text{TRP} \geq 0,86$ (86%):

$$\text{TmP/GFR} = 0,3 \times \text{TRP} / (1 - 0,8 \times \text{TRP}) \times \text{Pph}.$$

Полученные значения сравнивались с референтными показателями по Payne (1998) в соответствии с возрастом и полом пациента.

Всем пациентам проводилось рентгенологическое исследование длинных трубчатых костей на базе отделения Лучевой диагностики ФГБУ ЭНЦ (заведующий- д.м.н. Воронцов А.В.).

Ультразвуковое исследование почек проводилось на аппарате экспертного класса (Toshiba, Япония) по принятым методикам.

При наличии у пациентов признаков почечной недостаточности (СКФ менее 90 мл/мин/1,73 м.кв), нефрокальциноза и гиперкальциурии проводилось исследование микроальбуминурии и электрофорез белков в моче на автоматизированном анализаторе (Биохимическая лаборатория ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского).

2.3. Молекулярно-генетическое исследование

Молекулярно-генетический анализ проводился в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (заведующий лабораторией - д.м.н. Тюльпаков А.Н.).

Молекулярно-генетический анализ проводился методом высокопроизводительного параллельного секвенирования с использованием панели Custom Ion AmpliSeq™ (Life Technologies, США), включавшей праймеры для мультиплексной амплификации 22 генов (*ALPL*, *ATP6V0A4*, *ATP6V1B1*, *CASR*, *CLCN5*, *CLCNKB*, *CYP24A1*, *CYP27B1*, *CYP2R1*, *DMP1*, *ENPP1*, *FGF23*, *GALNT3*, *KL*, *LRP5*, *PHEX*, *PTHRI*, *SLC2A2*, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*, *VDR*), ассоциированных с наследственными нарушениями фосфорно-кальциевого обмена. Секвенирование генов проводилось на полупроводниковом секвенаторе PGM™ (Personal Genome Machine) Ion Torrent (Life Technologies, США).

Процесс высокопроизводительного секвенирования или секвенирования следующего поколения (Next-generation sequencing) включал следующие этапы:

1. Выделение ДНК из крови пациента по стандартному протоколу.
2. Приготовление ДНК - библиотек:
 - амплификация исследуемых участков генома, присоединение к ним адаптеров со штрих-кодами и очистка библиотек;
 - амплификация библиотек на микрочастицах и обогащение микрочастиц, содержащих ДНК-матрицы.

3. Расшифровка последовательности ДНК (секвенирование).

Биоинформационный анализ полученных в ходе секвенирования результатов проводился с использованием программ Torrent Suite (Ion Torrent) и ANNOVAR (annovar.openbioinformatics.org). Программа ANNOVAR позволяет сравнивать список однонуклеотидных замен, полученных по результатам секвенирования, с рядом специализированных баз данных [173,174].

Для оценки точности данного метода молекулярной диагностики все выявленные мутации проверялись с помощью секвенирования по Сэнгеру. Для этого с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) амплифицировали фрагменты геномной ДНК, включающие кодирующие последовательности генов, дефекты в которых были выявлены методом высокопроизводительного параллельного секвенирования. После электрофореза в 1% агарозном геле продукты ПЦР выделяли и очищали с использованием набора Wizard PCR Preps DNA Purification System, и затем секвенировали на автоматическом секвенаторе Genetic Analyzer Model 3130 (Applied Biosystems).

В качестве референсных последовательностей кДНК генов-кандидатов использовались ссылки Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>) под номерами NM_000444.4 (ген *PHEX*), NM_000785.3 (ген *CYP27B1*), NM_001127789.8 (ген *CLCN5*), NM_001017535.1 (ген *VDR*), NM_000478 (ген *ALPL*), NM_001128915 (ген *CYP24A1*), соответственно.

Обозначение мутаций проводили в соответствии с рекомендациями den Dunnen и Antonarakis [175].

2.4. Статистический анализ

Весь представленный фактический материал подвергнут обработке методом математической статистики с определением достоверности полученных данных. Статистический анализ проводился на персональном компьютере с использованием приложения Microsoft Excel 2010 при помощи пакета прикладных программ STATISTICA 10.0 (StatSoftInc., USA, Version 10.0; SPSS for Windows Version 20.0).

Проверка гипотезы о гауссовском (нормальном) распределении количественных признаков по критериям Колмогорова - Смирнова в форме Лиллиефорса и Шапиро - Уилка позволила судить о характере распределения (нормальное или ненормальное) и обосновать применение соответственно параметрических или непараметрических критериев статистики. Для количественных признаков рассчитывались: средние (M), стандартные отклонения (SD), минимальные (\min) и максимальные (\max) значения, медианы (Me), перцентили $[25;75]$. При сравнении двух независимых групп по количественному признаку для оценки значимости межгрупповых различий использовали t -критерий Стьюдента для нормальных выборок, U -тест Манна-Уитни (U) - для непараметрического распределения. Для сравнения двух и более качественных признаков использован критерий Кохрана-Мантеля-Ханзеля.

Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

ГЛАВА III

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клиническая характеристика пациентов

По результатам проведенного обследования из 150 пациентов в нашу группу было включено 100 обследованных с манифестацией рахита от 0 до 5 лет, среди которых 58 человек (58%) были лицами женского пола, 42 пациента (42%) – мужского. На момент начала обследования пациенты имели следующие диагнозы: в 50% случаев – рахит без уточнения формы, у 30% - гипофосфатемический рахит, у 10% детей – метафизарная хондродисплазия, в 7% случаев – задержка физического развития, у 3% обследованных – болезнь Блаунта и у одного пациента бронхообструкция на фоне гипокальциемии была расценена как проявление бронхиальной астмы.

Медиана возраста пациентов на момент проведения обследования составила 11,5 лет [4; 26,5], самому младшему больному было 3 месяца, старшему - 54 лет. Семейный анамнез по РПЗ был отягощен у 45 пациентов (45%), при этом у всех в последующем был диагностирован ГФР. В 14 случаях с семейной формой ГФР был обследован родитель пробанда, имевший аналогичные проявления заболевания.

Анализ клинических признаков в дебюте РПЗ

Анализ основных клинических проявлений в дебюте РПЗ показал гетерогенность клинической картины заболевания и высокую информативность таких признаков как деформации скелета и гипотония (Рисунок 4).

Рахитические деформации скелета (рахитические «браслетки» и «четки», варусная или вальгусная деформация ног) в раннем детском возрасте являлись наиболее частой (в 99% случаев) причиной обращения к врачу, при этом для пациентов с ГФР было характерно появление деформаций нижних конечностей с началом самостоятельной ходьбы.

Мышечная гипотония была одним из самых ранних проявлений заболевания (в 91% случаев). Низкий мышечный тонус также являлся основной причиной развития дыхательной недостаточности у пациентов с ГФ. Дети с диагнозом ГФР и ВДЗР вследствие гипотонии имели задержку в моторном развитии на первом году жизни, а также значительное ограничение физической активности и в более старшем возрасте.

Жалобы на различную патологию зубов (позднее прорезывание или раннее выпадение зубов, частый кариес или абсцессы, стертость эмали) имели место у 89% пациентов.

Задержка физического развития ребенка была диагностирована в 63% случаев.

Большинство родителей пациентов (в 78% случаев) с первоначально установленным диагнозом алиментарный рахит отмечали отсутствие клинического улучшения состояния ребенка на фоне проводимого лечения холекальциферолом (Рисунок 4).

Сопутствующие неврологические нарушения (эпилептические приступы, приступы рвот) были зарегистрированы у 3 пациентов с ГФР и у одного мальчика с ГФ. У одного пациента с ВДЗР 1А типа в период манифестации заболевания были зафиксированы многократные приступы бронхообструкции, как эквиваленты судорог.

У одного пациента врожденная форма рахита была верифицирована на доклиническом этапе в связи с отягощенным семейным анамнезом.

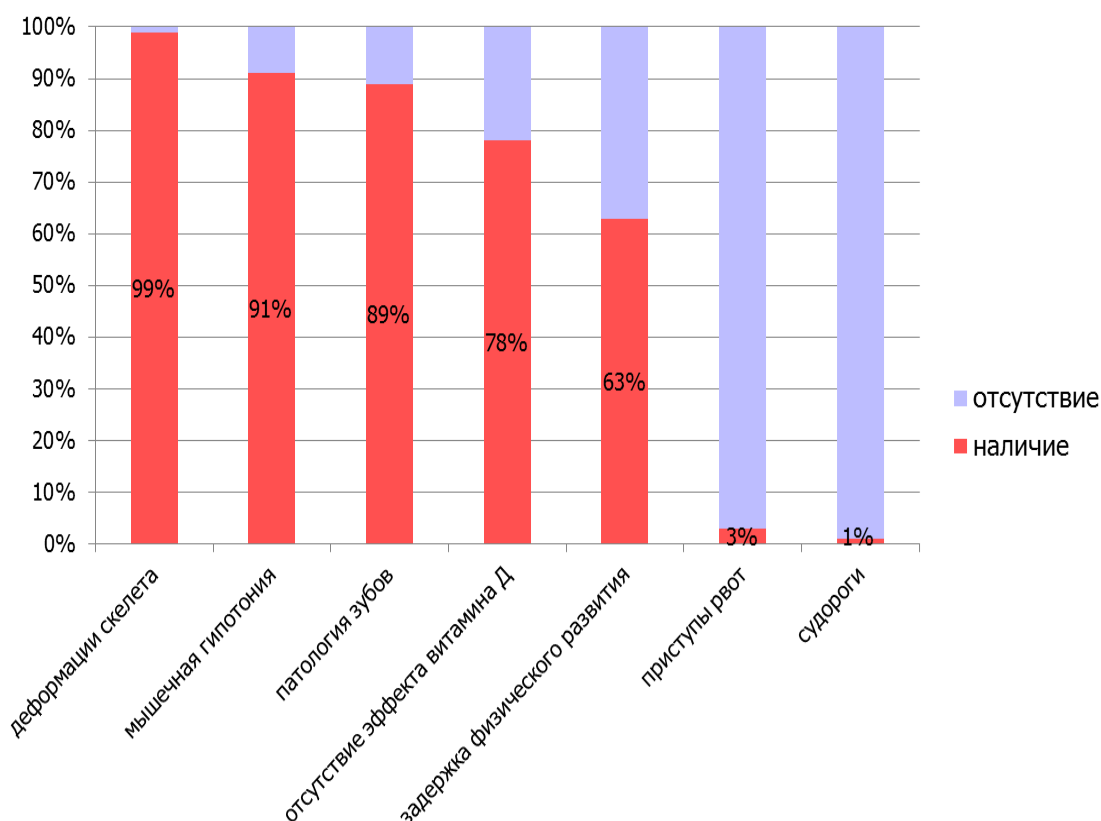


Рисунок 4. Спектр основных клинических проявлений РПЗ в дебюте заболевания.

Анализ антропометрических показателей у пациентов

Анализ антропометрических показателей на момент обследования показал, что 69 пациентов (69%) имели низкий рост (< -2 SD). В общей когорте обследованных ($n=100$) медиана роста составила $-2,54$ SD $[-3,7; -1,63]$.

У 43 пациентов с ГФР нами были измерены показатели длины верхнего (BC) и нижнего сегментов (HC) туловища и получены следующие данные: Me BC составила $-1,92$ SD $[-2,61; -0,82]$, Me HC оказалась равной $-2,77$ SD $[-4,01; -1,65]$. Диспропорциональное телосложение за счет укорочения нижнего сегмента (разница между сегментами более $1,5$ SD)

было выявлено у 14 пациентов (32,5 % случаев): Ме разницы между сегментами составила -2,21 SD [-1,75; -4,01].

Результаты осмотра полости рта

Патологические изменения зубов были выявлены у 89 пациентов. Анализ полученных результатов выявил следующие закономерности: множественный кариес, зубные абсцессы были характерны для пациентов, которым диагностировали ГФР; позднее прорезывание зубов, стертость эмали и в некоторых случаях раннее выпадение зубов – для детей с ВДЗР; у всех пациентов, которым был установлен диагноз ГФ, имело место преждевременное выпадение молочных зубов без признаков воспаления. Стоит отметить, что у 10 пациентов с ГФР (в 11% случаев) в возрасте старше 23 лет носили зубные протезы по причине полного отсутствия зубов.

Таким образом, анализ клинических проявлений РПЗ показал, что среди наиболее частых проявлений отмечались деформации скелета (99%), мышечная гипотония (91%), патология зубов (89%) и задержка физического развития (63%).

3.2. Гормонально – биохимические характеристики

В ходе лабораторно-инструментального обследования и на основании изменений показателей в крови уровня кальция, фосфора и щелочной фосфатазы нами было получено, что основную группу – 92 человека – составили пациенты с ГФР. У остальной части пациентов с клиническими признаками рахита был диагностирован ВДЗР (n=5) и ГФ (n=3).

Результаты статистического анализа гормонально-биохимических показателей, а также оценка корреляции генотип-фенотип продемонстрированы на основной группе пациентов с ГФР. Учитывая малую численность пациентов с ВДЗР и ГФ, мы считали нецелесообразным проведение статистических вычислений у данной группы.

Нами был проанализирован уровень фосфора неорганического в сыворотке крови в основной группе пациентов с ГФР ($n = 92$), а также в отдельности у мальчиков ($n=40$) и девочек ($n=52$), и получены следующие результаты: Ме фосфора в основной группе составила 0,78 ммоль/л [0,76;0,83]; у мальчиков Ме фосфора оказалась равной 0,77 ммоль/л [0,7; 0,81]; у девочек Ме фосфора составила 0,81 ммоль/л [0,76;0,84] (Рисунок 5). Статистически достоверных отличий в степени гипофосфатемии у пациентов разного пола выявлено не было ($p=0,056$).

Аналогичным образом был проведен сравнительный анализ показателей индексов реабсорбции фосфора TRP (%) и TmP/GFR (ммоль/л), который показал отсутствие статистически достоверных различий в степени гиперфосфатурии между пациентами мужского и женского пола ($p=0,65$, $p=0,25$, соответственно) (Рисунок 6). Медиана TRP в основной группе пациентов оказалась равной 75% [68;81,5], Ме TmP/GFR – 0,59 ммоль/л [0,51; 0,7]; Ме TRP (мужской пол, $n=40$) – 77% [67,5;80], Ме TRP (женский пол, $n=52$) – 76% [68;82,2] ($p=0,65$); Ме TmP/GFR (мужской пол, $n=40$) – 0,58 ммоль/л [0,45;0,7], Ме TmP/GFR (женский пол, $n=52$) – 0,6 ммоль/л [0,53;0,7] ($p=0,25$).

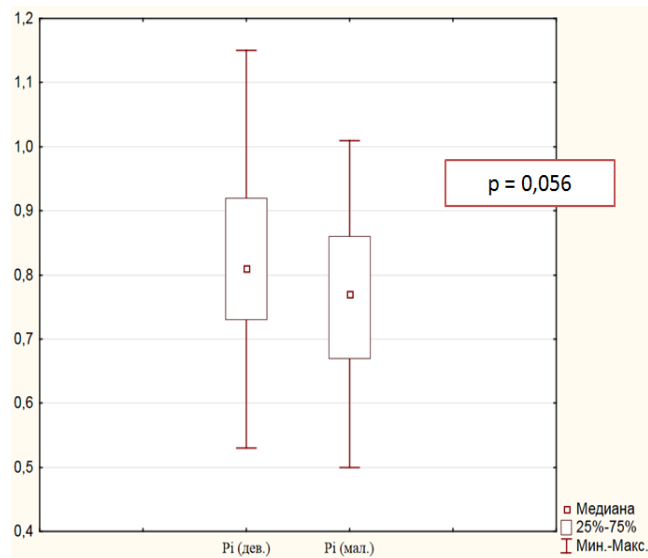


Рисунок 5. Медиана уровня фосфора в сыворотке крови у пациентов с ГФР разного пола.

Примечание: Рi- фосфор в сыворотке крови, ммоль/л.

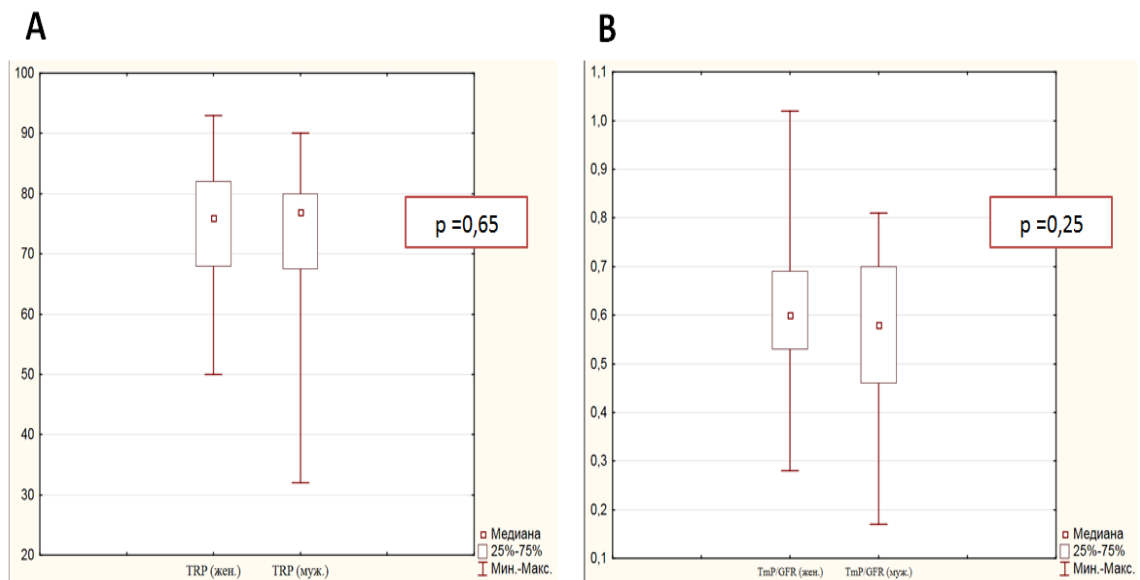


Рисунок 6. Медиана показателей индексов реабсорбции фосфора в моче у пациентов с ГФР разного пола.

Примечание: **А**- медиана TRP (%); **В** – медиана TmP/GFR (ммоль/л).

Нами не было выявлено отклонений от референтных значений уровня кальция в сыворотке крови в основной группе пациентов: Ме

уровня Са общего составила 2,19 ммоль/л [2,08;2,23], Me Ca^{2+} - 1,21 ммоль/л [1,16; 1,24].

Уровень паратиреоидного гормона (ПТГ) был измерен у 80 пациентов с ГФР (87%), и получены следующие результаты: медиана ПТГ составила 65,75 пг/мл [43,4;78,6]. Вторичный гиперпаратиреоз (ВГПТ) был диагностирован у 41 пациентов (в 44,6% случаев), Me значений ПТГ в сыворотке крови составила 78,2 пг/мл [71;100,2]. Интересным являлся тот факт, что повышение уровня ПТГ было наиболее характерно для пациентов старше 18 лет (в 57,1% случаев), которые никогда не получали терапию препаратами фосфора в анамнезе и на момент обследования.

С целью определения, какой из методов выявления гиперфосфатурии является наиболее точным, нами проведен сравнительный анализ данных пациентов, полученных методом рутинного измерения фосфора в моче (разовой и суточной порции), и расчетных показателей тубулярной реабсорбции фосфора (TRP, %). У пациентов с гипофосфатемией, вошедших в данное исследование, при вычислении TRP было доказано наличие гиперфосфатурии в 100% случаев (TRP менее 85%), что полностью согласуется с механизмом развития ГФР, в то время как, повышенный уровень фосфора при исследовании разовой порции мочи был обнаружен только у 32%, при анализе суточной порции мочи – у 12% (при норме фосфора: 12,9- 43,9 ммоль/сутки) и у 42,4% (при норме фосфора для детей: 1-25 ммоль/сутки), соответственно (Таблица 1). Оценить специфичность и чувствительность различных лабораторных методик не представлялось возможным по причине разнородности когорты пациентов и

необходимости формирования групп контроля, что не входило в задачи исследования.

Анализ экскреции кальция с мочой показал наличие гиперкальциурии у 5 пациентов (5,43 %). Оценку экскреции кальция проводили по нормативам Лаборатории биохимического анализа ФГБУ ЭНЦ (индекс Са/креатинин более 0,8 ммоль/ммоль) и соответствующих возрастных норм по Metz M. (2006): Ме индекса Са/креатинин составила 0,93 ммоль/ммоль [0,83;0,98].

С уверенностью говорить о развитии гиперкальциурии вследствие передозировки препаратами витамина Д не представлялось возможным, т.к. прием данных лекарственных средств осуществлялся пациентами нерегулярно и в различных дозировках, также на этом основании мы не смогли точно ответить на вопрос какие конкретно использовать в работе референтные интервалы для оценки экскреции кальция в моче (Таблица 1).

Таким образом, результаты анализа гормонально-биохимического обследования свидетельствует о высокой диагностической ценности расчетных индексов тубулярной реабсорбции фосфатов (TRP (%), TmP/GFR (ммоль/л)) в сравнении с рутинными методами определения фосфора в моче у пациентов с ГФР. В 44% случаев у пациентов с ГФР был диагностирован вторичный гиперпаратиреоз, который наиболее характерен для пациентов старше 18 лет (в 57,1% случаев).

Таблица 1. Биохимические показатели мочи пациентов с ГФР

показатель	TRP, %	Pi, ммоль/ л	Pi, ммоль/ сутки	Ca/Cr, ммоль/ ммоль	Ca, ммоль/л	Ca, ммоль/ сутки	Ca, мг/кг/ сутки
количество пациентов	92	92	63	92	92	63	63
М	73,7	33,5	21,26	0,26	1,6	1,52	1,61
минимальный	32	5,1	1,01	0,02	0,13	0,2	0,13
максимальный	95,6	68	70,8	1,3	6,34	3,68	7,27
норма*	85-95	12,9- 43,9	12,9- 43,9	0,1-0,8	1,7-5,3	2,5-8,0	не более 4

Примечание: М – среднее значение; TRP- показатель тубулярной реабсорбции фосфора; Pi- фосфор мочи; Ca- кальций мочи; Cr- креатинин; * по данным биохимической лаборатории ФГБУ ЭНЦ Минздрава России.

3.3. Результаты инструментальных методов исследования

По данным эхографического исследования признаки нефрокальциноза были выявлены у 9 пациентов (в 9,8% случаев) с ГФР, из которых у 5 в анамнезе имелись указания на прием в больших дозах препаратов нативной формы витамина Д, у 3 детей кальциноз почечной паренхимы был зафиксирован на фоне активного лечения препаратами фосфора и альфакальцидола, у одного мальчика медуллярный нефрокальциноз являлся проявлением синдрома Дента.

Рентгенологическое обследование пациентов с клинической картиной рахита показало свою высокую диагностическую значимость. В нашей группе пациентов на момент обследования в 97% случаев имелись изменения по данным рентгенограмм. Среди пациентов с ГФР и ВДЗР на рентгенограммах наиболее часто определялись такие признаки как:

расширение и разряжение зон метафизов трубчатых костей (кости предплечий, бедренные кости или кости голеней), а также неравномерность или «бахромчатость» их границы и бокаловидные вдавления; различные типы деформаций костей нижних конечностей: О-образные, Х-образные деформации или их сочетание (Рисунок 7). У двоих пациентов с ВДЗР 1А типа и ВДЗР 2А типа в момент манифестации заболевания на рентгенограмме имелась тяжелая деминерализация реберных дуг и рахитические «четки».

Особо стоит отметить рентгенологическую картину, которая была характерна для двоих пациентов с ГФ: по причине неравномерности оссификации костной ткани на снимках определялась четкая граница между участками минерализации и гипоминерализации, что выглядело как «языки пламени» на фоне расширенных метафизов (Рисунок 8).

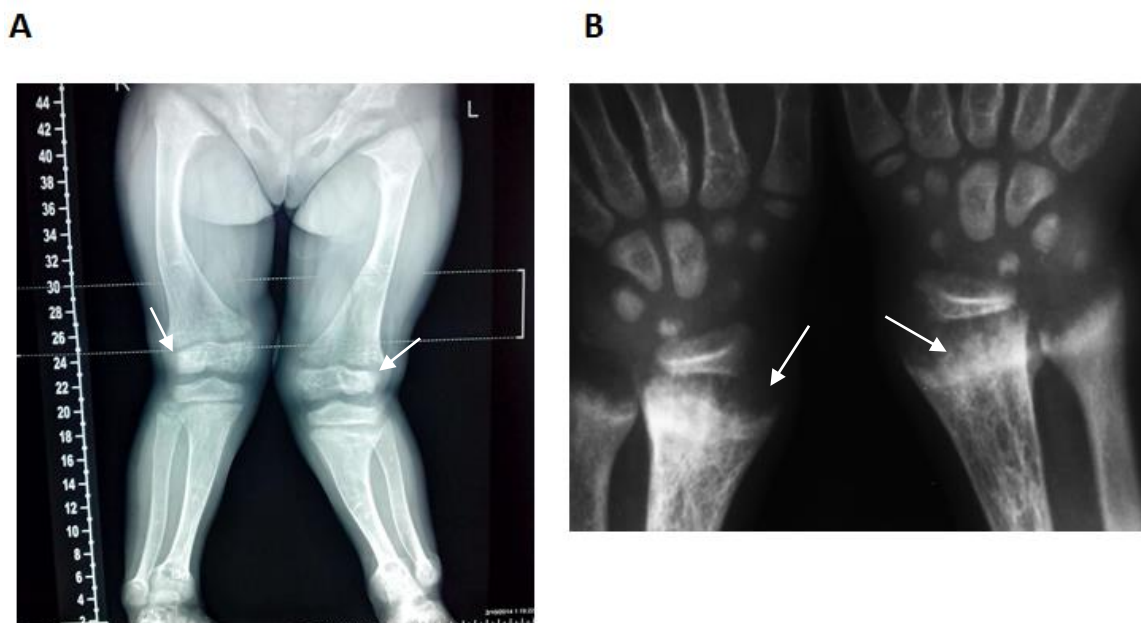


Рисунок 7. Рентгенограммы трубчатых костей пациента Е.М., 8 лет, диагноз Гипофосфатемический рахит.

Примечание: **А** - О-образная деформации бедренных костей, Х-образные деформации большеберцовых костей. **В** – разряжение структуры и расширение зон метафизов лучевых и локтевых костей. Стрелки - зоны метафизов.



Рисунок 8. Рентгенограмма костей нижних конечностей пациента В.М., 8 лет, диагноз Гипофосфатазия.

Примечание: стрелки – очаги гипоминерализации («языки пламени»).

3.4. Результаты молекулярно-генетического исследования пациентов с ГФР

Всем пациентам с клинической картиной рахита на фоне гипофосфатемии и гиперфосфатурии (n=92) был проведен анализ 10 генов-кандидатов, в результате чего наличие генетического дефекта было подтверждено у 84 пациентов (91,3%), из которых мутации гена *PHEX* обнаружены в 90,2% случаев (n=83), дефект гена *CLCN5* у 1 пациента. У одного пациента дефект гена *PHEX* (с.520_521insTTCAAGCACGG p.I174fs) сочетался с гетерозиготной мутацией в *DMP1* (с.475 C>A p.Q159K).

У 8 пациентов (8,7%) с клинико-лабораторной картиной ГФР и несемейной формой заболевания мутаций ни в одном из генов, ассоциированных с нарушениями фосфорно-кальциевого обмена, обнаружено не было, что, возможно, могло быть обусловлено дефектами других генов, невошедших в данное исследование.

Среди семейных форм патологии дефекты гена *PHEX* были обнаружены в 100% случаев, среди спорадических – 82,6%.

Описание найденных мутаций в гене *PHEX*

Спектр выявленных мутаций гена *PHEX* был представлен следующим образом: инсерции и делеции со сдвигом рамки считывания (n=17), нонсенс-мутации (n=16), миссенс-мутации (n=16), делеции без сдвига рамки считывания (n=7), нарушение сплайсинга (n=9) (Таблица 2).

Анализ полученных результатов генетического исследования и информации, представленной в базе данных *PHEX* Locus Database, показал, что из обнаруженных мутаций гена *PHEX* были ранее описаны 21, считаются неописанными ранее 42 [109].

Выявленные в нашем исследовании мутации были локализованы по всей длине гена *PHEX*, с большей плотностью в 3'-концевых участках и наиболее часто в экзонах 3, 5, 15, 17, 18, 21 и 22. Распределение выявленных мутаций в гене *PHEX* представлено на рисунке 9.

Таблица 2. Спектр мутаций гена *PHEX*.

Белок	ДНК	Экзон/интрон	Тип мутации	PHEXdb ID	Форма заболевания
p.E6fs	c.15_16delAG	экзон 1	сдвиг рамки считывания	187	спорадическая
p.R20X	c.58C>T	экзон 1	нонсенс	1	спорадическая
p.L31fs	c.92delT	экзон 1	сдвиг рамки считывания		спорадическая

p.L45fs	c.135_142del	экзон 2	сдвиг рамки считывания		спорадическая
p.L45X	c.134T>G	экзон 2	нонсенс		семейная
p.L67fs	c.201_205del	экзон 3	сдвиг рамки считывания	18	семейная
p.N71fs	c.213_216del	экзон 3	сдвиг рамки считывания		семейная
p.W88X	c.264G >A	экзон 3	нонсенс		спорадическая
	c.349+2T>C	интрон 3	нарушение сплайсинга		семейная
	c.349+2T>C	интрон 3	нарушение сплайсинга		семейная
p.Q133X	c.397C>T	экзон 4	нонсенс	193	спорадическая
p.Q133X	c.397C>T	экзон 4	нонсенс	193	спорадическая
	c.436+4A>C	интрон 4	нарушение сплайсинга		семейная
p.I174fs	c.520_521insTTC AAGCACGGTG GT	экзон 5	сдвиг рамки считывания		семейная
p.I174fs	c.520_521insTTC AAGCACGGTG GT	экзон 5	сдвиг рамки считывания		семейная
p.Q197Q	c.591A>G	экзон 5	синонимичная замена	267*	семейная
p.Q197Q	c.591A>G	экзон 5	синонимичная замена	267*	семейная
p.F206fs	c.618delG	экзон 5	сдвиг рамки считывания		семейная
	c.663+1G>A	интрон 5	нарушение сплайсинга		спорадическая.
	делеция экзона 7		делеция		спорадическая.
p.R291X	c.871C>T	экзон 8	нонсенс	6	семейная
p.R291X	c.871C>T	экзон 8	нонсенс	6	семейная
p.E304X	c.910G>T	экзон 8	нонсенс		спорадическая
	делеция экзона 8		делеция		семейная
p.F312S	c.935T>C	экзон 9	миссенс		спорадическая
p.Y317X	c.951C>A	экзон 9	нонсенс		семейная
	c.1079+2T>A	интрон 9	нарушение сплайсинга		спорадическая.
p.T398fs	c.1194delT	экзон 10	сдвиг рамки считывания		семейная
p.Q428X	c.1282C>T	экзон 11	нонсенс	177	спорадическая
	c.1302+2T>A	интрон 11	нарушение сплайсинга		семейная
p.E440fs	c.1320delG	экзон 12	сдвиг рамки считывания		спорадическая
p.R443H	c.1328G>A	экзон 12	миссенс	188	спорадическая
p.E455fs	c.1366dupT	экзон 12	сдвиг рамки		спорадическая

			считывания		
p.V506I	c.1516G>A	экзон 14	миссенс		спорадическая
	делеция экзона 14		делеция		семейная
p.P534S	c.1600C>T	экзон 15	миссенс		спорадическая.
p.R549X	c.1645C>T	экзон 15	нонсенс	13	спорадическая.
p.R549X	c.1645C>T	экзон 15	нонсенс	13	семейная
	делеция экзона 15		делеция		семейная
	c.1645+1G>A	интрон 15	нарушение сплайсинга	155	спорадическая
p.G579R	c.1735G>A	экзон 17	миссенс	90	спорадическая
p.G579R	c.1735G>A	экзон 17	миссенс	90	спорадическая
p.G579R	c.1735G>A	экзон 17	миссенс	90	спорадическая
p.G579R	c.1735G>A	экзон 17	миссенс	90	семейная
p.H580D	c.1738C>G	экзон 17	миссенс		семейная
p.S607X	c.1820C>G	экзон 18	нонсенс		спорадическая
p.E609fs	c.1826delA	экзон 18	сдвиг рамки считывания		спорадическая
p.Q621P	c.1862A>C	экзон 18	миссенс		спорадическая
p.Q621fs	c.1864dupT	экзон 18	сдвиг рамки считывания		спорадическая
	делеция экзона 18		делеция		спорадическая
	c.1965+1G>A	интрон 19	нарушение сплайсинга		семейная
p.K659_W660 insKfs	c.1975_1976insA ATG	экзон 20	сдвиг рамки считывания		семейная
p.R702X	c.2104C>T	экзон 21	нонсенс	16	семейная
p.S711fs	c.2134dupC	экзон 21	сдвиг рамки считывания		семейная
	c.2148-2insGG	интрон 21	нарушение сплайсинга		спорадическая
p.Q728RfsX12	c.2183delA	экзон 22	нонсенс		семейная
p.L731fs	c.2190delT	экзон 22	сдвиг рамки считывания		спорадическая
p.F731C	c.2192T>G	экзон 22	миссенс		спорадическая
p.C733Y	c.2198G>A	экзон 22	миссенс		спорадическая
p.R747X	c.2239C>T	экзон 22	нонсенс	17	семейная
p.R747X	c.2239C>T	экзон 22	нонсенс	17	спорадическая
p.W749C	c.2247G>C	экзон 22	миссенс		семейная
p.W749C	c.2247G>C	экзон 22	миссенс		семейная
	делеция экзонов 21-22		делеция		семейная
	делеция >250 Kb		делеция		спорадическая

Примечание: * данная мутация вероятно приводит к нарушению сплайсинга

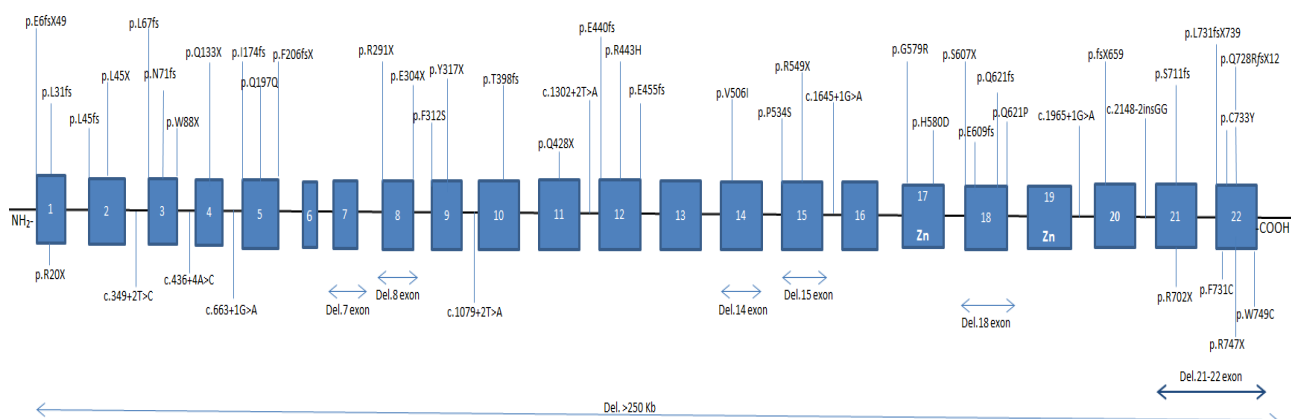


Рисунок 9. Схематическое обозначение мутаций гена *PHEX*, выявленных в исследовании. Референсная последовательность NCBI: NM_000444.4. Горизонтальные линии представляют большие делеции гена.

Среди выявленных мутаций 11% встречались более чем один раз: I174fs (n=2), Q133X (n=2), Q197Q (n=2), R291X (n=2), P549X (n=2), G579R (n=4), R747X (n=2) и W749C (n=2).

В ходе проведенного исследования было выявлено 16 различных миссенс-мутаций, одна из которых замена аргинина на глицин в кодоне 579 (p.G579R) экзона 17 гена была обнаружена у трех несвязанных между собой пациентов и двух двоюродных братьев. Данная мутация представляет большой интерес, так как находится рядом с высококонсервативным Zn-связывающим участком фермента (Рисунок 9), при этом дефекте белок менее устойчив к гликозилированию, быстрее подвергается внутриклеточной деградации и тем самым теряет способность встраиваться в плазматическую мембрану.

Нонсенс-мутации в данном исследовании составили 25 %, из которых 5 (W88X, L45X, E304X, Y317X S607X) не были описаны ранее. Формирование стоп-кодона приводит к синтезу нефункционального белка.

В нашем исследовании делеции экзонов гена *PHEX* составили 11%. У двоих выявлены делеции экзонов 18, 21 и 22. Известно, что в данных

экзонах расположены высококонсервативные остатки цистеина, поэтому можно предположить, что их потеря приводит к нарушению формирования вторичной структуры белка. У одного мальчика со спорадическим формой заболевания ген *PHEX* полностью отсутствовал.

Среди нашей когорты пациентов только у одного было выявлено сочетание дефекта гена *PHEX* (c.520_521insTTCAAGCACGG p.I174fs) с гетерозиготной мутацией в *DMP1* (c.475 C>A p.Q159K), которая была ранее описана. Моноаллельная замена p.Q159K в гене *DMP1* по предикторам базы данных ANNOVAR аннотирована как «условно патогенная» и, вероятнее всего, не влияет на развитие заболевания.

Клинические и биохимические показатели были сопоставлены в зависимости от типа мутации (мутации, приводящие к преждевременной терминации синтеза белка, и мутации без формирования стоп-кодона), а также по полу пациентов. Среди пациентов с мутациями, приводящими к формированию стоп-кодона, отмечено наличие более тяжелых деформаций нижних конечностей ($p=0,05$; 95%ДИ 1,5-12,27) (Рисунок 10), при этом оценка степени выраженности деформаций проводилась до начала медикаментозного лечения. Стоит отметить, что на полученные нами результаты мог отразиться следующий факт: большинство пациентов ($n=46$) были многократно прооперированы на нижних конечностях в раннем детском возрасте, что могло повлиять как на выраженность деформаций, так и на конечный рост. Поэтому утверждать, что более тяжелые деформации костей ног наблюдаются при дефектах гена *PHEX*, ведущих к преждевременной терминации трансляции, не представляется возможным.

При анализе наличия различий в тяжести проявлений ГФР между гемизиготными мужчинами и гетерозиготными женщинами в нашем

исследовании было выявлено, что у пациентов мужского пола риск развития абсцессов зубов был выше, чем у лиц женского пола ($p=0,01$; 95% ДИ 1,86-15,17) (Рисунок 11).

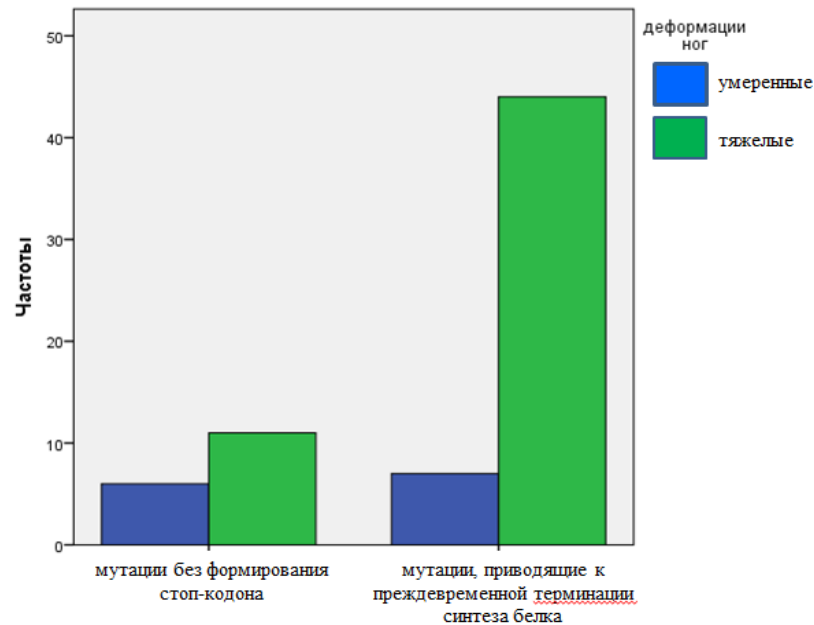


Рисунок 10. Корреляция между типом мутаций гена *PHEX* и тяжестью деформаций костей нижних конечностей.

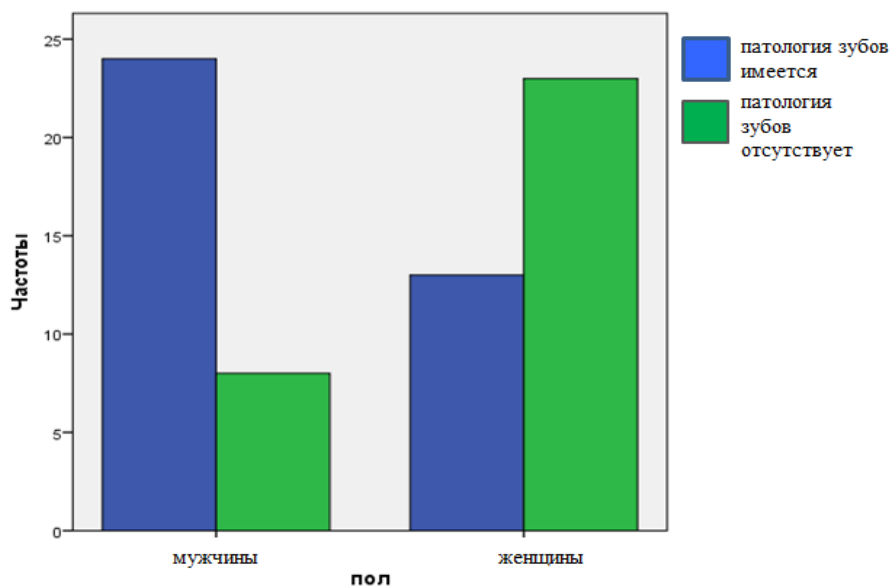


Рисунок 11. Корреляция частоты поражения зубов у пациентов мужского и женского пола с мутациями в гене *PHEX*.

Статистически достоверных различий в биохимических показателях между пациентами с различными типами мутаций, а также между гемизиготными мужчинами и гетерозиготными женщинами не выявлено (таблица 3).

Таблица 3. Корреляция биохимических показателей среди пациентов с мутациями в гене *PHEX* и между пациентами разного пола.

Показатель	Тип мутаций в гене <i>PHEX</i>		p
	мутации, приводящие к преждевременной терминации синтеза белка	мутации, не приводящие к преждевременной терминации белка	
фосфор крови, ммоль/л Me [25%; 75%]	0,77 [0,69; 0,85] n= 42	0,81 [0,69; 0,92] n= 41	0,36
TRP, % Me [25%-75%]	77 [70,5; 81,5] n= 42	76 [66,7; 82] n= 41	0,5
TmP/GFR, ммоль/л Me [25%;75%]	0,58 [0,49; 0,67] n= 42	0,63 [0,52; 0,7] n= 41	0,4
ПТГ, пг/мл Me [25%;75%]	67 [51,5;78,4] n= 37	49,7 [37,1;72,9] n= 37	0,06
<i>По полу</i>			
	женщины	мужчины	p
фосфор крови, ммоль/л Me [25%; 75%]	0,81 [0,74; 0,92] n=46	0,77 [0,67; 0,86] n=37	0,097
TRP, % Me [25%;75%]	76 [68,5; 82] n=46	76 [67,5; 70] n=37	0,83
TmP/GFR, ммоль/л Me [25%;75%]	0,61 [0,52; 0,7] n=46	0,57 [0,44; 0,65] n=37	0,24

Примечание: p - вероятность ошибки, рассчитанная по U-тест Манна-Уитни.

Среди когорты пациентов с ГФР у одного мальчика установлен диагноз синдром Дента, который был подтвержден молекулярно-генетически: обнаружена гемизиготная мутация с. 160C>T p.R34X гена

CLCN5 (транзиция цитозин-тимин в положении 160, приводящая к образованию преждевременного стоп-кодона). Ранее данный дефект гена был описан у пациента с тяжелым течением ГФР в составе синдрома Дента [172]. У нашего пациента картина заболевания характеризовалась быстро прогрессирующей почечной недостаточностью с 2,5 лет, протеинурией, гиперкальциурией, медуллярным нефрокальцинозом и умеренно выраженной клинической манифестацией ГФР в возрасте 5 лет. Данные пациента представлены в таблице 4.

Таблица 4. Показатели пациента В.Я., 5 лет, диагноз синдром Дента.

Показатель	Результат	Норма
Рост, SD	-1,74	± 2
Са общий крови, ммоль/л	2,55	2,15-2,7
Са 2+ крови, ммоль/л	1,21	1,03-1,29
фосфор крови, ммоль/л	1,23	1,45- 1,78
ЩФ крови, Ед/л	233	100-600
ПТГ крови, пг/мл	290,8	15-65
Креатинин крови, мкмоль/л	242,83	63-110
Мочевина крови, ммоль/л	24,1	1,7-8,3
СКФ, мл/мин	20	90-130
Белок мочи, г/л	2,68	0,03-0,05
Бета-2- микроглобулины мочи	имеются	отсутствуют
Са мочи, ммоль/л	4,92	1,7-5,3
Индекс Са/Сг, ммоль/ммоль	2,31	0,1-0,8
Са мочи, ммоль/сутки	2,12	2,5-8,0
Экскреция Са, мг/кг/сутки	6,1	не более 4

TRP, %	82	85-95
TmP/GFR, ммоль/л	1,0	1,22-1,6
УЗИ почек	медуллярный нефрокальциноз	
Молекулярно генетический анализ	ген <i>CLCN5</i> : с. 160C>T p.R34X	

В ходе молекулярно-генетического исследования нами были получены интересные данные: у двоих детей со спорадической формой ГФР наряду с дефектом в гене *PHEX* были обнаружены гетерозиготные мутации в гене *CYP24A1*. Данные пациентов представлены в таблице 5.

Таблица 5. Характеристики пациентов с мутациями в генах *PHEX* и *CYP24A1*.

Показатель	Девочка, 6 лет	Мальчик, 15 лет
Манифестация заболевания	15 мес.	12 мес.
Прием витамина Д	да	да
Прием препаратов фосфора	да	нет
Фосфор крови, ммоль/л (норма: 1,45-1,87 ммоль/л)	0,57	0,57
Са общий крови, ммоль/л (норма: 2,1-2,5 ммоль/л)	2,49	2,4
ПТГ, пг/мл (норма: 15-65)	-	70,7
25 (ОН)D, пг/мл (норма: 30-80)	-	9,5
TRP, % (норма: 85-95%)	73	80
Индекс Са/Сг, ммоль/ммоль (норма: 0,1-0,8)	-	0,03
Са мочи, мг/кг/сут. (норма: не более 4 мг/кг/сут.)	6,9	0,44
УЗИ почек	нефрокальциноз	без патологии
Мутация гена <i>PHEX</i>	/с. 1079+2T>A	с. 1645 C>T p. R549X
Мутация гена <i>CYP24A1</i>	/с. 469 C>T p. R157W	/с. 1645 C>T p. R396W

Ранее в литературе было представлено описание пациентки с типичной картиной инфантильной гиперкальциемии и ее здорового брата,

у обоих пациентов была обнаружена компаунд-гетерозиготная мутация p.M374T/p.R157W гена *CYP24A1* [177]. Известно, что гетерозиготная замена R157W гена *CYP24A1* в общей популяции встречается достаточно часто и составляет 1,9% (Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP)), поэтому данная замена скорее всего не является патогенной.

Замена аргинина на триптофан в кодоне 396 гена *CYP24A1* также считалась непатогенной (dbSNP). Интересным является исследование семьи, где у девочки с характерной клиникой инфантильной гиперкальциемии была обнаружена составная гетерозиготная мутация p.L409S/p.R396W гена *CYP24A1*, в то же время у ее брата с аналогичным дефектом гена имелись нормокальциемия, низкий уровень ПТГ и нефрокальциноз без клинической симптоматики, что свойственно для неполной пенетрантности. В дальнейшем *in vitro* было показано полное отсутствие активности фермента *CYP24A1* при дефекте R396W [178].

В доступной литературе описаний одновременного наличия дефектов в генах *PHEX* и *CYP24A1* у пациентов с ГФР не найдено. Можно было бы предположить, что риск развития нефрокальциноза у нами представленных пациентов будет более высоким. Однако известно, что для пациентов с ГФР в целом характерно развитие нефрокальциноза, который обусловлен в большей степени гиперфосфатурией, а также применением в период активного роста высоких доз препаратов фосфора и альфакальцидола.

Таким образом, результаты молекулярно-генетического анализа свидетельствуют о преобладании дефектов гена *PHEX* как причины ГФР в структуре наследственных форм рахита. Дефекты гена *PHEX* выявлены у 83% пациентов, при этом 42 мутации являются ранее неописанными.

3.5. Оценка эффективности терапии у пациентов с ГФР

Оценка эффективности консервативной терапии проводилась по следующим критериям: динамике роста, динамике деформаций нижних конечностей (отсутствие или наличие их прогрессии).

По результатам нашего обследования 48 пациентам (52%) с установленным диагнозом ГФР и открытыми зонами роста (т.е. в возрасте до 14,5-16 лет) нами было рекомендовано лечение препаратами фосфорного буфера в сочетании с альфакальцидолом или кальцитриолом. Учитывая низкую доступность препаратов фосфора, только 28 пациентов имели возможность регулярно получать данную терапию, на которых и была основана оценка эффективности проводимой терапии.

Группу пациентов, которым консервативная терапия препаратами фосфорного буфера была назначена в возрасте от 3 месяцев до 3 лет, составили 40% обследованных, остальные данное лечение начали в возрасте старше 3 лет.

Трое пациентов от 10 до 13 лет консервативную терапию получали уже после многократно выполненных коррегирующих остеотомий, на фоне приема препаратов фосфора в течение 3 лет динамического наблюдения рецидива деформаций у них не наблюдалось.

У 7 детей с началом терапии с первых двух лет жизни отмечалась удовлетворительная динамика роста и минимально выраженные деформаций ног (Таблица 6). У четверых мальчиков несмотря на раннее начало консервативного лечения (старт терапии до 3 лет) имелась отрицательная динамика в виде прогрессии деформаций ног, у двоих из которых данная ситуация могла быть обусловлена недостаточностью доз терапии.

Удовлетворительные результаты консервативного лечения были получены у 8 пациентов (в 47% случаев), терапия которых была начата в возрастном периоде от 4-10 лет (Таблица 6).

Несмотря на проводимое лечение у 4 пациентов (Таблица 6, пациенты Л.Д.*, И.Д.*, Б.Л.*, Х.М.*) отмечалось усугубление деформаций ног, которое потребовало проведение временного эпифизиодеза с постановкой 8-образных пластин на зоны роста бедренных и большеберцовых костей. Важно подчеркнуть, что изначально проведение оперативной коррекции у данных пациентов было высоковероятным, так как на момент первичного обследования деформации были тяжелыми: расстояние между медиальными мыщелками бедренных костей составляло более 15 см. В последующем, учитывая данный опыт, нами было принято решение о проведении временного эпифизиодеза сразу после постановки диагноза ГФР еще шестерым пациентам (Таблица 6, пациенты С.М.*, Е.М.*, К.Е.*, К.А.*, В.Р.*, С.С.*).

В динамике через 12 месяцев после оперативного вмешательства и активно проводимого консервативного лечения отметилась положительная динамика в виде уменьшения деформаций ног у троих пациентов (Рисунок 12).

Показатели конечного роста двоих пациентов, фосфорный буфер которым был назначен в 12 и 10 лет, оказались низкими. Вполне вероятно, что у девочки (Таблица 6, Пациент Б.С.***) на конечный рост могли отрицательно отразиться многократные оперативные вмешательства с 4 летнего возраста, поздно начатое лечение фосфатами. У мальчика (Таблица 6, Пациент Н.И.***) низкий конечный рост скорее

всего был обусловлен быстрым закрытием зон роста на фоне бурного пубертата с 10 лет.

Один мальчик наряду с препаратами фосфора и альфакальцидолом получал терапию рекомбинантным гормоном роста (pГР) из расчета 0,033 мг/кг/сутки в течение 3 лет. На этом фоне динамика его роста улучшилась, деформации ног без признаков прогрессии: до начала терапии рост -3,1 SD, скорость роста -4,17 SD; на фоне лечения рост -2,48 SD, скорость роста +0,51 SD, Δ 1,69 SD.

Таким образом, можно считать удовлетворительным результат консервативной терапии в 57% случаев.

Таблица 6. Динамика роста и деформаций нижних конечностей у пациентов на фоне терапии фосфорным буфером и альфакальцидолом.

Пациент	Рост SD (до начала лечения)	Возраст начала лечения (лет)	Длительность терапии (лет)	Рост SD на фоне лечения	Δ SD	Прогрессия деформаций ног (есть/нет)
Пациент Д.А.	-0,34	0,3	2,4	0,62	0,28	нет
Пациент Б.И.	-0,69	0,7	1,7	0,03	0,56	есть
Пациент К.М.	-1,14	1,3	1,4	0,04	1,1	нет
Пациент М.М.	0,93	0,8	0,6	1,6	0,67	нет
Пациент Ш.В.	-1,13	1,9	2	0,09	1,04	нет
Пациент М.Н.	-1,78	1,6	2	-2,3	-0,52	есть
Пациент М.М.	-1,44	1,4	1,9	-1,5	-0,06	нет
Пациент Б.А.	-2,03	1,8	2	-1,56	0,47	есть
Пациент Б.И.	-1,55	2,8	1	-1,2	0,35	есть
Пациент С.А.	-0,47	2	5	0,42	0,89	нет
Пациент Ш.И.	-1,68	2	4	-1,18	0,5	нет
Пациент М.Е.	-2,35	3,3	0,6	-2,1	0,24	нет
Пациент К.М.***	-2,86	4	3,6	-2,48	0,38	нет
Пациент С.М.*	-1,44	4	1	-1,2	0,24	есть
Пациент Л.Д.*	-1,53	4	1,9	-1,03	0,5	есть
Пациент М.Д.	-2,52	4	0,9	-2,42	0,1	нет
Пациент Х.М.*	-2,68	5	3	-2,61	0,07	есть
Пациент И.Д.*	-2,99	5	1	-3,01	-0,02	есть
Пациент К.Е.*	-4,38	5	0,6	-3,61	0,77	нет
Пациент Е.М.*	-3,55	6	2	-3,61	-0,06	нет
Пациент С.С.*	-4,94	7	1	-3,68	1,26	нет
Пациент М.Д.**	-0,68	9	5	-1,19	-0,51	нет

Пациент Б.Л.*	-2,68	10	3	-2,24	0,44	нет
Пациент Н.И.**	-0,74	10	2	-2,09	-1,35	нет
Пациент К.А.*	-3,82	10	0,6	-3,52	0,3	нет
Пациент Б.С.**	-4,04	12	2	-4,07	-0,03	нет
Пациент В.Р.*	-3,13	12	0,6	-3,08	0,05	нет
Пациент Р.А.**	-1,97	12	2	-1,84	0,13	нет

Примечание: SD - коэффициент стандартного отклонения, *пациенты, которым потребовалось проведение оперативной коррекции (временный эпифизиодез); ** пациенты, которым до назначения лечения была проведена операция (корректирующая остеотомия); *** терапия включала фосфорный буфер+ альфакальцидол+ рГР

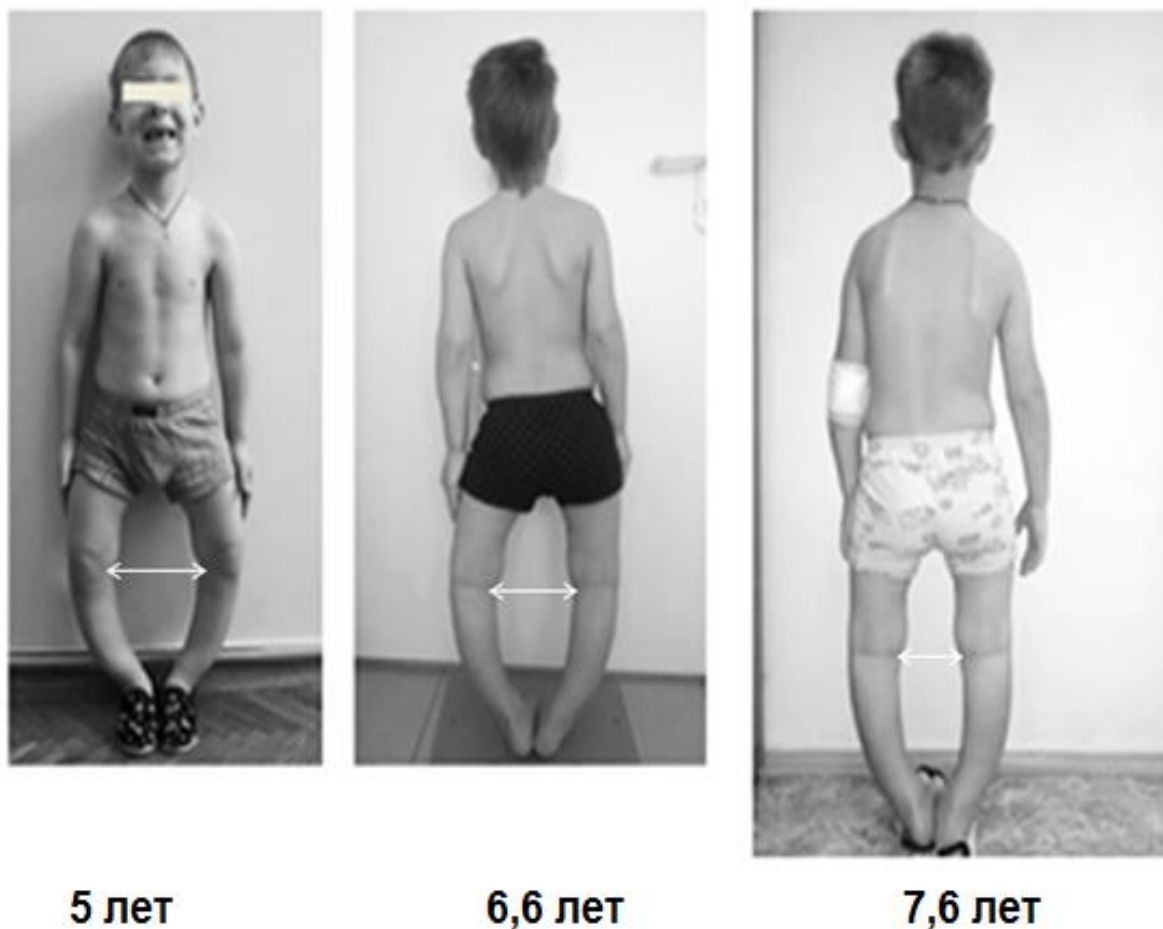


Рисунок 12. Пациент Л.Д., динамика деформаций нижних конечностей на фоне сочетания консервативной терапии (с возраста 5 лет) и оперативной коррекции (временного эпифизиодеза в возрасте 6,6 лет).

Примечание: белой стрелкой отмечаено расстояние между метафизами бедренных костей: до лечения- 16,5 см, через 2,6 лет лечения - 8,3 см.

В виду наличия большой когорты пациентов ($n=43$) с ГФР, в анамнезе которых имелись указания на проведение коррегирующих остеотомий на костях нижних конечностей, нам представилась возможность провести анализ эффективности данного способа оперативного лечения. Оценка эффективности основывалась на показателях роста пациентов.

Как показал анализ результатов, показатели роста были достоверно ниже у тех, кто перенес многократные коррегирующие остеотомии на костях ног ($n=43$) (Таблица 7). Самые низкие показатели роста были зафиксированы у пациентов, перенесших более 4 коррегирующих остеотомий ($n=23$), Ме роста составила $-4,4$ SD, при этом минимальный показатель роста был равен $-7,17$ SD, максимальный показатель – $-2,67$ SD. Медиана возраста первой оперативной коррекции деформаций составила 7 лет [6;10,5]. Медиана роста пациентов ($n=36$), перенесших остеотомии, и которые на момент исследования достигли конечного роста, составила $-3,4$ SD [$-4,54$; $-2,28$].

Таблица 7. Показатели роста пациентов с ГФР после проведения коррегирующих остеотомий.

Количество операций	1 группа 2-4 ($n=20$)	2 группа более 4 ($n=23$)	P
SD роста	$-2,21$	$-4,4$	$P_{1-2} = <0,01$
Ме [25;75]	[$-2,65$; $-1,75$]	[$-5,34$; $-3,4$]	
Минимальный	$-4,13$	$-7,17$	
Максимальный	$-0,39$	$-2,67$	

Примечание: SD- коэффициент стандартного отклонения; p - вероятность ошибки, рассчитанная по U-тест Манна-Уитни.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высоком риске развития рецидивов деформаций ног (в 93,7 % случаев) при проведении коррегирующих остеотомий в период активного роста у пациентов с ГФР, что отрицательно влияет на конечный рост.

3.6. Клиническая характеристика пациентов с мутациями в гене *CYP27B1* (n=3)

Клиническая характеристика пациентов с мутациями в гене *CYP27B1* представлена в таблице 8.

Таблица 8. Характеристика пациентов с мутациями в гене *CYP27B1*.

Показатель (норма)	Пациент Г.В.	Пациент Н.И.	Пациент М.К.
Пол	мужской	женский	женский
SDS роста	-3,4	-0,1	-1,93
SDS ИМТ	0,36	-2,7	0,58
Ca ²⁺ , ммоль/л (норма: 1,03-1,29)	0,61	-	1,05
Са общий крови, ммоль/л (норма: 2,15-2,55)	1,44	1,15	1,98
Фосфор крови, ммоль/л (норма: 1,45-1,87)	1,2	0,4	1,12
ЩФ, Ед/л (норма: 180-720)	11761	644,2	885
ПТГ, пг/мл (норма: 15-65)	209,8	408,9	611,4
TRP, % (норма: 85-95)	нет данных	86	90
TmP/GFR, ммоль/л (норма: 1,15-2,44)	нет данных	1,26	1,08
на фоне лечения альфакальцитриолом и кальцитриолом			
Ca ²⁺ , ммоль/л (норма: 1,03-1,29)	1,17	1,09	1,23
Фосфор крови, ммоль/л (норма: 1,45-1,87)	1,71	1,46	1,62
ЩФ, Ед/л (норма: 180-720)	223	345	450
ПТГ, пг/мл (норма: 15-65)	38	103	63
Мутация гена <i>CYP27B1</i>	c.240delT p.F80fsX79/ c.928A>G p.N310D	c.1166G>A p.R389H/ c.718dupC p.H240PfsX93	c.221C>T p.P74L/ c.1435C>T p.Q479X

Характеристика течения заболевания у пациентов с мутациями
в гене *CYP27B1*

Пациент 1 Г.В., мальчик, 1,5 лет, был рожден на сроке 39 недель с нормальными росто-весовыми показателями (52 см, 3358 г). С 5 месяцев жизни появились приступы бронхообструкции, которые повторялись до 5-7 раз в день, без положительного эффекта от введения ингаляционных глюкокортикоидов. Психомоторное развитие ребенка в первом полугодии жизни соответствовало возрасту, но к 9 месяцам отмечался выраженный регресс моторных навыков: перестал сидеть, переворачиваться. При тактильном контакте отмечался постоянный плач, что, возможно, было обусловлено болевым синдромом. Клинически отмечалась незначительная рахитическая деформация грудной клетки, верхних и нижних конечностей. Значительно замедлилось физическое развитие, усугублялись деформации скелета. В возрасте 1 года 3 месяцев выпали два передних зуба. Обследован в 1 года 5 месяцев в связи с отставанием в росте (72 см, -3,4 SD), выраженными рахитическими деформациями скелета. У ребенка отмечалась выраженная гипотония мышц конечностей, живота, наличие рахитических «браслеток» на лучезапястных суставах, «четок» на ребрах, выраженная варусная деформация ног. Данные лабораторного обследования приведены в таблице 8.

По результатам рентгенологического исследования костей верхних и нижних конечностей определялись характерные рахитические изменения костной ткани: разряжение структуры и «бахромчатость» метафизов, О-образная деформация костей голеней.

По результатам молекулярно-генетического исследования у пациента были выявлены 2 гетерозиготные мутации: с.240delT р.F80LfsX79 (делеция тимина в позиции 240, приводящая к замене фенилаланина на лейцин в

позиции 80, сдвигу рамки и образованию преждевременного стоп-кодона) и с.928A>G p.N310D (транзиция аденин-гуанин в позиции 928, приводящая к замене аспарагина на аспартат в позиции 310) в гене *CYP27B1*. Выявленные мутации ранее описаны не были. Мутации аннотированы, как патогенные по предикторам базы данных ANNOVAR. На основании проведенного обследования пациенту был установлен диагноз ВДЗР-1А, назначена терапия препаратами альфакальцидола и кальция, на фоне которой отмечалось полная нормализация как состояния ребенка, так и показателей фосфорно-кальциевого обмена (таблица 8).

Пациент 2. Н.И., девочка, 12 лет. Из раннего анамнеза известно, что с 6 месяцев наблюдалась педиатром и ортопедом в связи с жалобами на плохую прибавку в весе, позднее прорезывание зубов, боль в ногах, которая ограничивала ее двигательную активность. На основании повышения уровня ЩФ и ПТГ, снижения уровня кальция и фосфора крови (таблица 8), ребенку был установлен диагноз «Гипофосфатемический рахит», назначались препараты кальция и нативных форм витамина Д (максимальная доза до 35000 МЕ/сутки) с умеренно положительным эффектом. При попытке снижения доз данных препаратов наблюдалась отрицательная динамика лабораторных показателей: увеличение уровня ЩФ и ПТГ, снижение уровня кальция и фосфора крови. Следует обратить внимание, что при динамическом наблюдении характерных рахитических деформации скелета или наличие судорог не отмечалось. С возраста 6 лет в терапию были включены препараты альфакальцидола и кальцитриола, на фоне которых наблюдалась нормализация показателей фосфорно-кальциевого обмена.

В ФГБУ ЭНЦ МЗ РФ обратилась в возрасте 12 лет. При осмотре обращало на себя внимание дефицит веса: масса тела 27,3 кг (-2,7 SD), рост

142,1 см (-0,1 SD), деформации костей отсутствовали. В биохимическом анализе крови на фоне терапии рокальтролом (в дозе 0,5 мкг/сутки) получен нормальный уровень кальция и ЩФ, низконормальный уровень фосфора, умеренно повышенный уровень ПТГ. Показатели почечной реабсорбции фосфора соответствовали норме: TRP - 86% (норма, 85-95), TmP/GFR - 1,26 ммоль/ммоль (норма, 1,15-2,44), что исключало наличие гипофосфатемического рахита.

Генетический анализ выявил наличие составной гетерозиготной мутации гена *CYP27B1*: с.1166G>A p.R389H (транзиция гуанин-аденин в позиции 1166, приводящая к замене аргинина на гистидин в позиции 389) и с.718dupC p.H240PfsX93 (дупликация цистеина в позиции 718, приводящая к замене гистидина на пролин в позиции 240, сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона). Первая мутация была ранее описана, патогенность второй мутации приводящей к сдвигу рамки считывания и формированию стоп-кодона сомнений не вызывает. Известно, что аргинин в кодоне 389 1-4β-спирали P450c1α является высококонсервативным. В исследованиях *in vitro* активность энзима с миссенс-мутацией в R389H полностью отсутствовала [179]. Мать и отец ребенка были гетерозиготными носителями мутаций p.R389H и с.718dupC, соответственно, и не имели каких-либо клинических проявлений заболевания.

Пациент 3 М. К., девочка, 4 лет 2 месяцев. Из раннего анамнеза известно, что на первом году развивалась по возрасту, мышечной гипотонии, судорог не отмечалось. Первые зубы появились с 8 месяцев. С момента начала самостоятельной ходьбы (в возрасте 12 месяцев) появилось изменение походки по типу «утиной» в последующем сформировалась О-образная деформация ног, что послужило поводом

обращения к ортопеду в возрасте 1 года 3 месяцев. Было рекомендовано динамическое наблюдение. В возрасте 4 лет на основании гипофосфатемии, гипокальциемии, гиперпаратиреоза и характерных рахитических изменений зон метафизов бедренных костей было заподозрено РПЗ. Молекулярно-генетический анализ выявил наличие составной гетерозиготной мутации гена *CYP27B1*: с.221C>Т р.Р74L (транзиция цитозин-тимин в позиции 221, приводящая к замене пролина на лейцин в позиции 74) и с.1435C>Т р.Q479X (транзиция цитозин-тимин в позиции 1435, приводящая к образованию преждевременного стоп-кодона в позиции 479). Выявленные мутации ранее описаны не были. Мутации аннотированы, как патогенные по предикторам базы данных ANNOVAR. Таким образом, на основании полученных результатов ребенку был установлен диагноз витамин-Д-зависимый рахит 1А типа. Спустя 2,5 месяца от начала терапии альфакальцидолом в дозе 2,25 мг/сутки все показатели фосфорно-кальциевого обмена нормализовались (таблица 8).

3.7. Клиническая характеристика пациентов с мутациями в гене *VDR* (n=2)

Клиническая характеристика пациентов с мутациями в гене *VDR* представлена в таблице 9.

Таблица 9. Характеристика пациентов с мутациями в гене *VDR*.

Показатель (норма)	Пациент Л.Е.	Пациент Б.Ю.
SDS роста	-4,09	-1,94
SDS ИМТ	0,36	0,68
Ca ²⁺ крови, ммоль/л (норма: 1,03-1,29)	0,96	0,93
Ca общий крови, ммоль/л (норма: 2,15-2,55)	1,9	1,93
Фосфор крови, ммоль/л (норма: 1,45-1,87)	0,75	0,92
ЩФ, Ед/л	2772	798

(норма: 180-720)		
ПТГ, пг/мл (норма: 15-65)	970,6	347,2
на фоне лечения альфакальцитолом и кальцитриолом		
Ca ²⁺ крови, ммоль/л (норма: 1,03-1,29)	1,13	1,25
Фосфор крови, ммоль/л (норма: 1,45-1,87)	1,54	1,45
ЩФ, Ед/л (норма: 180-720)	379	189
ПТГ, пг/мл (норма: 15-65)	45	63
Мутация гена <i>VDR</i>	с.180C>A р.С60X/ с.847G>A р.Д283N	/ с.950A>G р.Q317R

Характеристика течения заболевания у пациентов с мутациями в гене *VDR*.

Пациент Л.Е., девочка, 2 года 7 месяцев. Из анамнеза известно, что девочка рождена на сроке 39 недель с нормальными росто-весовыми показателями (53 см, 3450 г). Родители ребенка здоровы, брак не родственный. При рождении у девочки отмечалась умеренно выраженная О-образная деформация нижних конечностей и мышечная гипотония, алопеция отсутствовала. Первые зубы появились в 4 месяца. С 7 месяцев отмечилось снижение темпов роста, в 1 год рост ребенка составлял 70 см (-1,57SD). В возрасте 1 года появились и быстро прогрессировали рахитические деформации грудной клетки (рахитические «четки» на ребрах) и костей предплечий (рахитические «браслетки»), с момента начала самостоятельной ходьбы (в возрасте 1 года 2 месяцев) деформации ног усугублялись, походка была переваливающейся, ребенок предъявлял жалобы на быструю утомляемость и боль в ногах. К возрасту 2 лет девочка не могла самостоятельно передвигаться, также появились нарушения акта дыхания, что было обусловлено выраженной мышечной гипотонией и

тяжелыми деформациями грудной клетки. Терапия препаратами фосфора и кальцитриолом (в дозе 0,25 мкг/сутки) была неэффективна.

В тяжелом состоянии ребенок был доставлен в ФГБУ ЭНЦ. Учитывая ранний возраст манифестации рахита, по данным обследования наличие гипокальциемии, гипофосфатемии, повышения активности ЩФ и резко повышенного уровня ПТГ в крови, а также тяжелой деминерализации зон метафизов трубчатых костей (ребер, лучевых костей, бедренных и большеберцовых костей) был заподозрен витамин-Д-зависимый рахит. По результатам молекулярно-генетического исследования у пациента были обнаружены 2 гетерозиготные мутации гена *VDR*: p.C60X в 3 экзоне (приводящая к образованию преждевременного стоп-кодона) и p.D283N в 7 экзоне (приводящая к замене аспарагиновой кислоты на аспарагин в позиции 283). Выявленные мутации ранее описаны не были. Первая мутация C60X расположена во втором «Zn-пальце» высоконсервативного ДНК-связывающего домена *VDR* (Рисунок 13), результатом данного дефекта гена является преждевременная терминация синтеза белка. Вторая мутация D283N гена находится в лиганд-связывающем домене *VDR*, известно, что данный участок белка принимает участие во взаимодействии с 1,25(OH)2D3. В исследованиях *in vitro* ранее описанной мутации C60W было показано отсутствие регуляции транскрипции *CYP24A1* и полная резистентность *VDR* к 1,25(OH)2D3.

Таким образом, ребенку на основании полученных результатов был установлен диагноз витамин-Д-зависимый рахит 2А типа, назначена терапия кальцитриолом (3-6 мкг/сутки) и препаратами кальция (167 мг/кг/сутки). На фоне лечения спустя 8 месяцев удалось достичь клинической компенсации заболевания: ребенок начал самостоятельно ходить, улучшилась динамика роста, нарушения дыхания полностью

купировались, выраженность деформаций скелета значительно уменьшилась; нормализация лабораторных показателей была зафиксирована через 16 месяцев (таблица 9).

Пациент Б.Ю., девочка, 12 лет. Поступила в эндокринологическое отделение в возрасте 12 лет с жалобами на деформацию и укорочение левой нижней конечности, быструю утомляемость при ходьбе. Из анамнеза известно, что ребенок от здоровых родителей, от физиологической доношенной беременности с нормальными росто-весовыми показателями при рождении (52 см, 3420г). На первом году жизни у девочки имелись признаки рахита: рахитические «четки» на ребрах, гипертрофия лобных бугров, мышечная гипотония. Первые зубы прорезались в 7 месяцев. В связи с тем, что ребенок в возрасте 1 года 2 месяцев самостоятельно не ходил, было проведено обследование, по результатам которого выявлены гипофосфатемия (фосфор крови до 0,6 ммоль/л), повышение активности щелочной фосфатазы (ЩФ до 1007 Ед/л), низконормальный уровень кальция в крови (Са общий 2,0 ммоль/л). Ребенку был установлен диагноз рахит, назначено лечение холекальциферолом в дозе 5000 МЕ/сутки. На фоне проводимой терапии отмечалась положительная динамика: девочка начала самостоятельно ходить, однако сформировалась варусная деформация костей голеней, которая к 6 годам практически исчезла. При динамическом наблюдении в крови сохранялась гипофосфатемия, результаты остальных показателей фосфорно-кальциевого обмена были нам не доступны. В возрасте 9 лет у девочки отмечались прогрессия в деформации левой нижней конечности, по причине чего была проведена коррегирующая остеотомия, после которой появилось укорочение левой ноги и сформировалась прихрамывающая походка.

При обследовании в эндокринологическом отделении в возрасте 12 лет у девочки отмечались О-образная деформация левой бедренной кости и Х-образная деформация левой большеберцовой кости, выраженный сколиоз. При лабораторно-инструментальном обследовании обращало на себя внимание наличие характерных признаков рахита: в крови - гипокальциемия, гипофосфатемия, повышение активности ЩФ, вторичный гиперпаратиреоз; рентгенологически - разряжение зон метафизов костей нижних конечностей. Молекулярно-генетическое исследование показало наличие у девочки гетерозиготной мутации в гене *VDR*: с.950A>G р.Q317R (транзиция аденин-гуанин в позиции 950, проводящая к замене глутамина на аргинин в позиции 317). У родителей ребенка мутация не выявлена, что свидетельствовало в пользу ее возникновения *de novo*. Данная миссенс-мутация ранее не была описана (Рисунок 13). В литературе имеется информация о нонсенс-мутации Q317X в экзоне 8 гена *VDR*. При функциональном исследовании данного дефекта *in vitro* был показан блок взаимодействия LBD-домена рецептора с 1,25(OH)₂D₃, а также полное отсутствие ферментативной активности CYP24A1 в условиях высокой концентрации кальцитриола [180].

На основании полученных результатов нами был установлен диагноз витамин-Д-зависимый рахит 2А типа, назначена терапия альфакальцидолом (1,5 мкг/сутки) и препаратами кальция (500 мг/сутки). На фоне лечения через 4 месяца отмечалась нормализация уровня кальция и фосфора в крови, через 8 месяцев - нормализация уровня паратгормона. (Таблица 9).

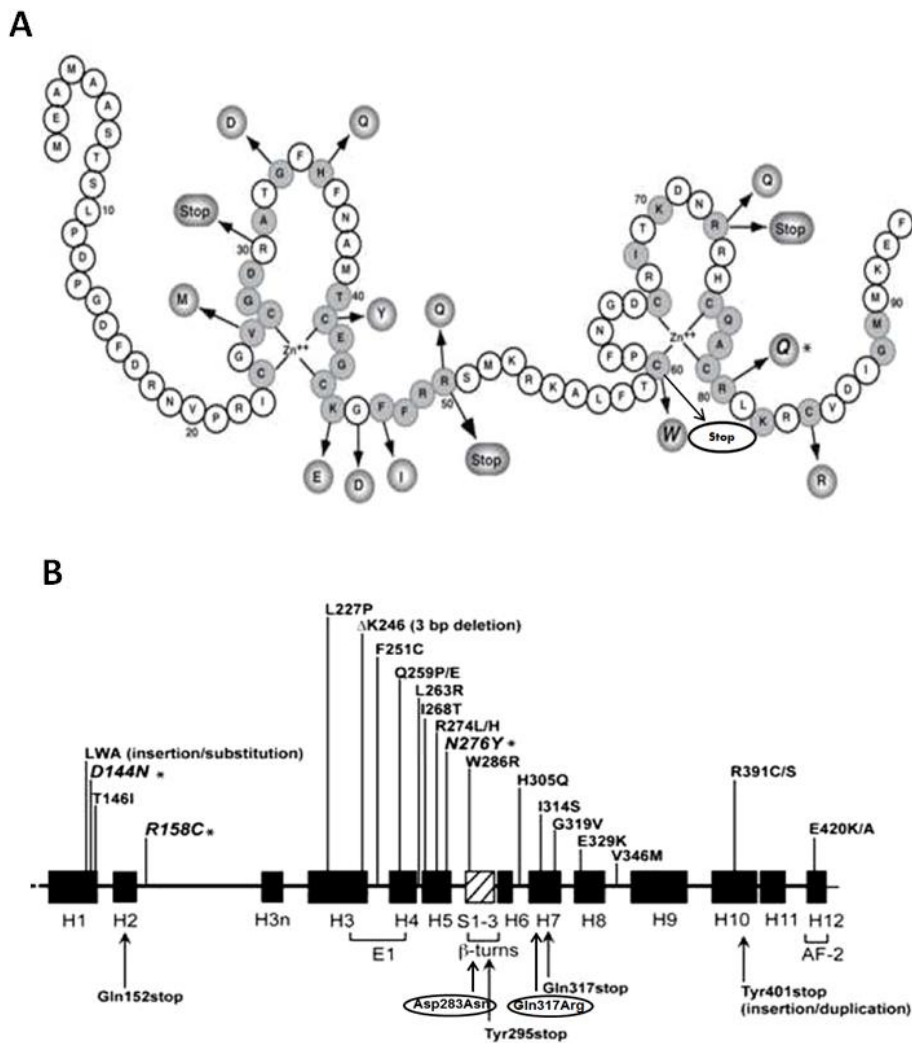


Рисунок 13. Схематичное обозначение мутаций в гене *VDR*

Примечание: А- мутации ДНК- связывающем домене VDR (VDR-DBD); В- мутации в лиганд-связывающем домене VDR (LBD-VDR) (Feldman D. с соавт., Endocrinol. Metab. Clin. North Am. (2011) с изменениями); овал- обозначены мутации в гене VDR, выявленные у пациентов в данном исследовании.

Клиническая характеристика пациентов с мутациями в гене *ALPL* (n=3)

Пациент 1. Г.М., мальчик, 4 года. Из раннего анамнеза известно, что ребенок, рожден на 39-40 неделе гестации от здоровых родителей в неродственном браке с нормальными ростом и массой тела (53 см, 3800 г.). С рождения отмечалась выраженная гипотония, в результате чего ребенок отставал в моторном развитии - поздно начал держать голову и

самостоятельно сидеть. Самостоятельно ходить «утиной» походкой мальчик начал с 1 года 7 месяцев, отмечалась быстрая утомляемость и боли в ногах при ходьбе. В возрасте 2 лет у ребенка выпали передние молочные зубы. В связи с отставанием в росте в 3 года с целью исключения соматотропной недостаточности проведена СТГ-стимуляционная проба с клофелином, получен нормальный выброс соматотропного гормона (максимальный выброс СТГ 16,1 нг/мл).

При обследовании в ФГБУ ЭНЦ в возрасте 4 лет отмечалось отставание в физическом развитии: рост 91,3 см (-2,66 SD), вес 11,3 кг (-2,1 SD). При осмотре обращало на себя внимание скафоидная форма черепа за счет краниостеноза, плоско-вальгусная установка стоп, «переваливающаяся» походка, быстрая утомляемость, в связи с чем ребенок чаще находился в коляске. По данным показателей биохимического анализа крови был двукратно получен низкий уровень щелочной фосфатазы до 62,8 Ед/л (норма: 180-720 Ед/л), при нормальных показателях кальция, витамина В6, умеренном повышении фосфора и незначительно сниженном уровне паратгормона (Таблица 10). По результатам рентгенологического исследования было выявлено значительное разрежение костной ткани в области метафизов локтевой и лучевой костей.

В качестве наиболее вероятной причины раннего выпадения молочных зубов, нарушения походки, низкого уровня щелочной фосфатазы крови, рахитических изменений структуры костей нами был рассмотрен диагноз «ГФ». Окончательно данный диагноз был подтвержден по результатам молекулярно-генетического анализа гена *ALPL*, который показал наличие 2 гетерозиготных мутаций: с.340G>A p.A114T (транзиция гуанин-аденин в позиции 340, в результате которой произошла замена аланина на треонин в позиции 114), и с.571G>A

p.E191K (транзиция гуанин-аденин в позиции 571, приводящая к замене глутаминовой кислоты на лизин в позиции 191). Выявленные мутации были описаны ранее.

Пациент 2. В.М., девочка, 8 лет. Из анамнеза известно, что девочка от 2 беременности, родов на сроке 37 недель гестации. Вес при рождении составил 3660 г., длина тела 51 см. С первого месяца жизни у ребенка отмечались частые срыгивания и низкая динамика прибавки в весе. В возрасте 3 месяцев у девочки появились клинические признаки рахита: мышечная гипотония, увеличение лобных бугров, размягчение краев и увеличение в размере большого родничка, быстро прогрессирующая деформация грудной клетки, появились рахитические «четки» на ребрах и рахитические «браслетки» на лучезапястных суставах. Динамика физического развития была значительно замедлена. В возрасте 1 года у девочки выпало 8 молочных зубов. Неоднократно в крови несмотря на яркую картину рахита фиксировался низкий уровень ЩФ (23-34 Ел/л), уровень кальция и фосфора сыворотки были в пределах нормы, в моче определялась гиперкальциурия. По поводу рахита ребенок длительно получал холекальциферол (2000-4000 МЕ/сутки), препараты кальция. При динамическом обследовании в ФГБУ ЭНЦ в возрасте 8 лет у девочки имел место дефицит веса: вес 17,2 кг (-3,24 SD), рост 117,1 см (-1,75 SD), долихоцефалическая форма черепа, выраженная деформация грудной клетки, рахитические «браслетки» на руках и варусная деформация бедренных костей. В биохимическом анализе крови получен значительно сниженный уровень щелочной фосфатазы до 21 Ед/л (норма: 180-720), умеренно повышенный уровень фосфора (Таблица 10). По данным рентгенологического исследования выявлены характерные рахитические изменения структуры костей верхних и нижних конечностей: неровность

метафизов, узурация эпифизов. Молекулярно-генетический анализ выявил наличие составной гетерозиготной мутации гена *ALPL*: с.253A>C р.Т85Р (трансверсия аденин-цитозин в позиции 253, которая ведет к замене треонина на пролин в позиции 85), и с.571G>А р.Е191К. Вторая мутация оказалась аналогичная той, что выявлена у первого пациента.

Пациент 3. Г.М., девочка, 3 года. Из анамнеза известно, что на 24 неделе гестации по данным УЗИ имелись признаки скелетной дисплазии трубчатых костей. Ребенок был рожден в срок с нормальными ростовесовыми показателями (масса тела 3465 г., длина тела 52 см), без признаков нарушения дыхания и деформаций скелета. На первом году жизни отмечалось выраженное отставание в росте (в 1 год рост -3,0 SD), задержка моторного развития ребенка - начала сидеть с 9 месяцев, самостоятельно ходить с 18 месяцев. Первые зубы прорезались в 9 месяцев, однако, с 14 месяцев у девочки выпали два нижних резца, в 2 года 8 месяцев - верхние резцы. С 1,5 лет наблюдались частые респираторно-вирусные заболевания с развитием пневмонии. При обследовании в возрасте 3 лет выявлен дефицит веса: вес 10,5 кг (-2,31 SD), рост 88 см (-1,31 SD), вальгусная деформация нижних конечностей. В биохимическом анализе крови получен низкий уровень щелочной фосфатазы до 40 Ед/л (норма: 180-720). По данным рентгенологического исследования определялись множественные разнокалиберные участки разрежения костной ткани по типу «матового стекла» в зонах метафизов костей предплечий и костей голеней, а также булавовидные расширения передних отрезков рёбер. Молекулярно-генетический анализ показал наличие составной гетерозиготной мутации гена *ALPL*: с.571G>А р.Е191К (аналогичная двум первым случаям), и с.1166C>Т р.Т389I (транзиция

цитозин-тимин, приводящая к замене треонина на изолейцин в позиции 389).

Интересно, что выявленная мутация p.A114T гена *ALPL* у нашего первого пациента оказалась аналогична той, что была обнаружена в гетерозиготном состоянии у матери мальчика, которому впервые в мире был установлен диагноз ГФ.

Выявленная нами мутация p.T389I в экзоне 10 гена *ALPL* была ранее описана у ребенка с перинатальной формой ГФ, который имел компаунд-гетерозиготные мутации p.T389I/p.S368del (Versailles lab oct. 2004). Клиническая картина заболевания у нашего пациента с дефектом p.E191K/p.T389I гена *ALPL* больше соответствует инфантильной форме патологии.

Таблица 10. Биохимические параметры сыворотки крови пациентов

Параметр	Пациент Г.М.	Пациент В.М.	Пациент В.М.
Щелочная фосфатаза, Ед/л (норма: 180-720)	68,4	21	40
Фосфор крови, ммоль/л (норма: 1,45- 1,78)	2,0	2,0	нет данных
Са общий крови, ммоль/л (норма: 2,1- 2,55)	2,3	2,38	нет данных
Паратгормон, пг/мл (норма: 15- 65)	11,2	нет данных	нет данных

Глава IV

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ РАБОТЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В исследование были включены 100 пациентов с дебютом рахита от 0 до 5 лет. По данным лабораторно-инструментального обследования основную группу составили пациенты с ГФР (n=92), ВДЗР был диагностирован у 5 детей, ГФ — у 3 пациентов. Таким образом, мы подтвердили, что ГФР преобладает в структуре наследственных форм рахита.

Анализ анамнеза показал, что самыми распространенными клиническими проявлениями рахита в нашей когорте пациентов были: прогрессирующие деформации скелета в раннем детском возрасте, мышечная гипотония, различные патологические изменения зубов (позднее прорезывание или преждевременное выпадение, множественный кариес или спонтанные абсцессы). Разнообразие признаков заболеваний, свидетельствует о необходимости определения показателей фосфорно-кальциевого обмена у детей данной категории с целью своевременной постановки диагноза.

Такие проявления нарушения обмена кальция как судороги были зафиксированы у одного пациента, при этом они проявлялись в виде приступов бронхообструкций, что свидетельствует о важном диагностическом значении определения уровня кальция в крови при различных вариантах судорог.

Высокая вероятность развития ГФР должна учитываться при наличии у ребенка рахитических деформаций скелета и аналогичных признаков у одного из родителей.

Отсутствие положительного эффекта от назначения терапии нативными формами витамина Д (холекальциферола) и прогрессия заболевания, могут являться признаками врожденных дефектов в обмене витамина Д, что требует проведения более углубленного обследования и назначения патогенетической терапии.

Вариабельность фенотипа

Нами было отмечено, что по тяжести течения заболевания наибольшая вариабельность была характерна для пациентов с ВДЗР.

Клиническая картина пациентов с ВДЗР 1А типа, несмотря на то, что все имели дефекты гена *CYP27B1*, значительно отличалась: наиболее тяжелая у мальчика характеризовалась мышечной гипотонией и судорогами в сочетании с деформациями скелета, у двух других детей имело место более легкое течение. По данным литературы, четкой корреляции между степенью снижения активности фермента *CYP27B1* и тяжестью проявлений заболевания не выявлено [79,81,84]. В работе Alzahrani A. с соавт. (2010) сообщается о девочке из многодетной семьи, у которой с 9 месяцев имелась клиническая картина тяжелого рахита, она была носительницей гомозиготной мутации с.305G>A p.G102E гена *CYP27B1*, обусловившей снижение активности P450c1 α на 80%. При этом у ее родных братьев и сестер, имевших аналогичный

дефект гена, отмечалось более легкое течение или полное отсутствие жалоб [181].

Считается, что для ВДЗР 2А типа менее характерна вариабельность проявлений, и как правило, все пациенты с дефектами в гене *VDR* имеют яркие признаки рахита на первом году жизни. Особенностью данной формы рахита является возможное наличие алопеции. По данным литературы, все пациенты с дефектами в ДНК-связывающем домене *VDR* имели алопецию, а из 5 пациентов с компаунд-гетерозиготными мутациями гена *VDR* в различных доменах (R80Q/N276Y; R30X/ΔK246, 366delC/E329K, T146I/R158C, и R263L/R391S), только у двоих с дефектами T146I/R158C и R80Q/N276Y облысение отсутствовало [182]. В нашем клиническом случае, где девочка являлась носителем составной гетерозиготной мутации C60X/D283N гена *VDR*, можно предполагать, что миссенс-мутация D283N в гене *VDR* предотвращает развитие алопеции, но не в состоянии предотвратить рахит.

Особый интерес представляет наш второй клинический случай с ВДЗР 2А типа, так как с большей вероятностью демонстрирует доминантно-негативный эффект гетерозиготной мутации Q317R гена *VDR*. Подобный эффект был описан ранее Malloy P. с соавт. (2002) у пациентки с гетерозиготной миссенс-мутацией E420A в гене *VDR*, имевшей клиническую картину рахита и гипокальциемию. В исследовании *in vitro* было показано, что при наличии одной дефектной аллели гена *VDR*, активность белка снижается на 50%.

Пациенты с ГФ также имели неоднородность фенотипических признаков, наиболее тяжелое течение заболевания у девочки характеризовалось наличием дыхательных расстройств в раннем детском возрасте и тяжелыми деформациями скелета. Все пациенты имели отличительный признак данной формы рахита- раннее выпадение зубов без признаков воспаления. Как известно, причиной ранней потери зубов при ГФ является нарушение формирования цемента зуба, что приводит к его расшатыванию и выпадению.

Интересно, что в ходе генетической диагностики были выявлены составные гетерозиготные мутации гена *ALPL*: A114T/E191K, T85P/E191K, T389I/E191K, соответственно. Миссенс-мутация E191K в экзоне 6 у всех представленных детей, по литературным данным имеет высокую частоту встречаемости среди пациентов европейского происхождения, являясь «умеренной». В исследованиях *in vitro* было показано, что активность фермента с данным дефектом была сохранена на 55-86% (Zurutuza L. с соавт., 1998).

Можно сделать предположение, что у описываемого нами второго пациента с ГФ раннее начало заболевания и более тяжелое течение обусловлены наиболее выраженным снижением активности ЩФ в результате мутаций T85P/E191K.

Вероятно, что дефект E191K гена *ALPL* свойственен российской популяции, однако для подтверждения эффекта основателя гена требуется проведение дополнительных исследований на большей когорте пациентов.

Проявления ГФР имели более постоянный характер у обследованных нами пациентов. Характерной особенностью ГФР является патология зубов, также как и при ГФ, у пациентов с ГФР отмечается раннее выпадение зубов. Причина данного симптома заключается в возникновении абсцессов пульпы зуба: из-за порозности низкоминерализованной эмали и дентина нарушается биологический барьер с окружающей зуб средой, что в совокупности с расширенными камерами пульпы приводит к проникновению микробов в корень зуба и развитию в нем воспалительных изменений [183].

В нашем исследовании клинический случай с синдромом Дента демонстрирует, что ГФР может быть представлен в симптомокомплексе с такими проявлениями заболевания как, быстро прогрессирующая ХПН, протеинурия, нефрокальциноз на фоне гиперкальциурии. При этом манифестация ГФР может отмечаться отсрочено. В данном случае проведение молекулярно-генетической диагностики оказало решающее значение при планировании динамического наблюдения за пациентом, так как обнаруженная мутация p.R34X гена *CLCN5* была ранее описана у мальчика с тяжелым ГФР (Schlingmann K. с соавт., 2011). Анализ имеющихся литературных данных лишний раз подчеркивает, что вариабельность симптомов, возможно «мягкий» фенотип синдрома Дента, а в ряде случаев отсутствие указаний наотягощенный семейный анамнез, обуславливает гиподиагностику данного состояния. В Японии в ходе обследования 86 детей с низкомолекулярной протеинурией было выявлено, что 70% пациентов имели мутацию гена *CLCN5*, 13% - дефект гена *OCRL1* [184].

Можно сделать заключение, что гетерогенность и неспецифичность клинических проявлений различных форм рахита требует от врача проведения более тщательного обследования и наблюдения пациентов с наличием или отсутствием ярко выраженной картины рахита.

Информативность лабораторно-инструментального обследования

По совокупности полученных данных, мы пришли к выводу, что при подозрении на наличие заболеваний, сопровождающихся клинической картиной рахита, обязательным условием в постановке правильного диагноза является определение основных показателей минерального обмена, а именно: уровня кальция, фосфора, активности щелочной фосфатазы в крови. В нашем исследовании всем детям с клиникой рахита, но парадоксально низким уровнем ЩФ в крови, по результатам генетического анализа диагноз ГФ был подтвержден, что говорит о высокой диагностической ценности измерения щелочной фосфатазы.

Данные проведенного исследования подчеркивают важность интерпретации биохимических показателей в соответствии с возрастом пациентов. Все пациенты с верифицированным ГФР имели такой диагностический признак как гипофосфатемию, следует подчеркнуть, что в раннем детском возрасте нижняя граница нормального значения уровня фосфора в крови значительно выше, чем у взрослых.

Определение индексов тубулярной реабсорбции фосфора и кальций/креатининового индекса в моче при диагностике различных наследственных форм рахита имеет высокую значимость. У пациентов с диагностированным ГФР индексы TRP и TmP/GFR были низкими, что подтверждает наличие гиперфосфатурии, в то время как при простом определении фосфора в суточной или разовой порции мочи без проведения вычисления индексов тубулярной реабсорбции фосфатов высока вероятность получения нормальных значений, что противоречит патогенезу ГФР и, в конечном счете, может являться причиной неверной или несвоевременной диагностики заболевания. На рисунке 15 показана частота определения гиперфосфатурии с применением различных методов.

Кроме того, нами было отмечено, что большинство диагностических лабораторий в бланках заключений не устанавливают возрастного деления референтных значений уровня фосфора как в крови, так и в моче, что также повышает вероятность гиподиагностики нарушений фосфорно-кальциевого обмена.

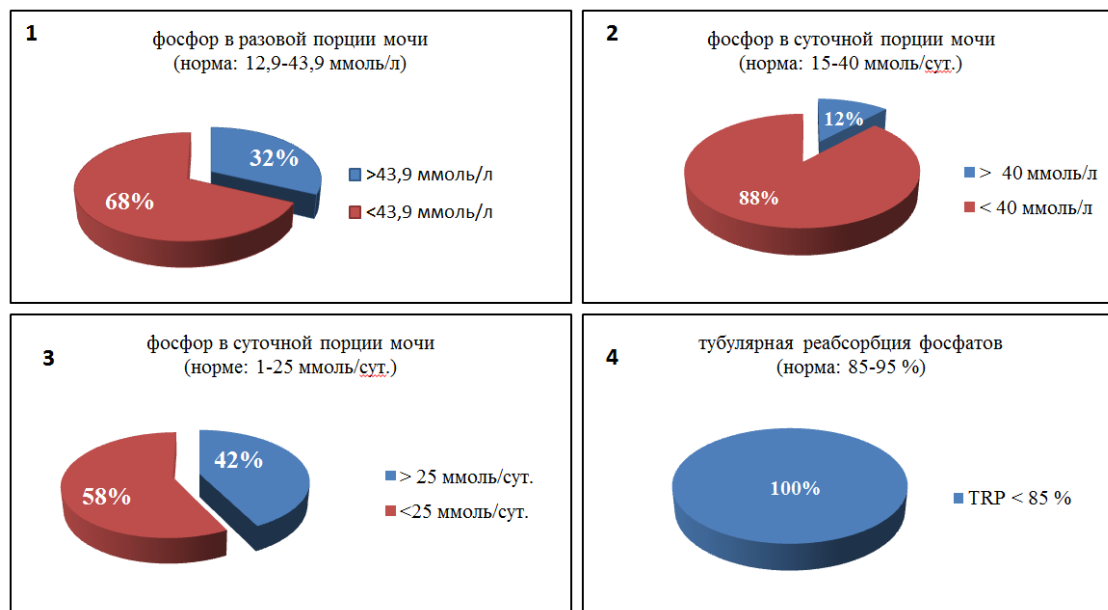


Рисунок 15. Информативность различных методов в выявлении гиперфосфатурии

Считается, что градацию нормальных значений индекса Са/креатинина (Са/Сг) относительно возраста использовать предпочтительней, так как реабсорбирующая и экскретирующая функция почек в раннем детстве незрелая, что объясняет более высокий уровень кальция в моче в сравнении с взрослыми. Нормальные показатели экскреции кальция у детей приближаются к взрослым значениям к 4-7 годам. Учитывая, что у детей до 3-5 лет технически сложно провести сбор суточной порции мочи для оценки экскреции кальция в пересчете на вес ребенка, то индекс Са/Сг по разовой порции считается хорошей альтернативой на первом этапе скрининга гиперкальциурии. Простое измерение кальция в разовой порции малоинформативно. Рекомендуется рассчитывать индекс Са/Сг

в случайно собранной порции мочи, но у детей она не должна быть собрана после ночного сна, т.к. длительный голодный промежуток закономерно ведет к меньшей экскреции кальция с мочой [185,186,187]. В более взрослом возрасте наибольшей диагностической ценностью в выявлении гиперкальциурии обладает методика вычисления экскреции кальция с мочой на вес пациента, кроме того для этого метода имеется принятая во всех странах норма - не более 4 мг/кг/сутки.

Взгляд на референтные значения индекса Ca/Cr в мире неоднозначен. Как было отмечено по результатам исследований в Европе, США, странах Востока референтные значения индекса Ca/Cr должны быть разработаны для каждого географического региона с учетом характера питания, качества воды, уровня инсоляции и др. В России в доступной печати отсутствуют подобные исследования. В крупнейшем аналитическом исследовании Metz M. (2006) [188], основанном на анализе опубликованных в литературе данных 4386 человек в возрасте от 0 до 18 лет, которым определялся индекс Ca/Cr в моче, была определена «точка отсечения» (cut-off) верхней границы данного индекса для каждого возрастного периода, выше которой можно диагностировать наличие гиперкальциурии.

Считаем важным отметить, что, учитывая характер проводимого нами исследования и отсутствие в его задачах определения референтных границ уровня кальция в моче в российской популяции, оценка специфичности и чувствительного различных методик не

проводилась. Однако, как показывает опыт других стран, данные исследования имеют важное диагностическое значение.

Нами подтверждена исключительная роль лучевых методов исследования в диагностике рахита, так как данный метод позволил оценить изменения структуры костей: при ГФР и ВДЗР метафизы трубчатых костей расширены и имеют диффузную неоднородность, при ГФ отмечается чередование очагов минерализации и гипоминерализации, что приобретает характерный вид «языков пламени». Полученные результаты дают основания утверждать, что рентгенологическое исследование является обязательным в диагностике обменных заболеваний, сопровождающихся деформациями скелета. Кроме как на этапе постановки диагноза, так и на этапе динамического наблюдения данный метод исследования позволяет проводить оценку эффективности назначенного лечения: при правильно подобранной терапии отмечается улучшение или полное восстановление структуры костной ткани.

Молекулярно-генетическое исследование методом высокопроизводительного параллельного секвенирования показало высокую частоту выявляемости конкретной причины РПЗ. Среди 100 пациентов с клинической картиной рахита удалось обнаружить генетический дефект практически у всей когорты пациентов (в 92% случаев), из которых в гене *PHEX* были обнаружены в 83% случаев. У пациентов с подозрением на наличие дефектов в метаболизме витамина Д мутации в гене *CYP27B1* обнаружены у троих пациентов, в гене *VDR*

у двоих детей, что подтверждает крайне редкую встречаемость данных форм рахита.

По данным зарубежных источников в больших когортах пациентов с ГФР поломки в гене *PHEX* определялись в 50-90% случаев (Holm I. с соавт., 2001; Gaucher C. с соавт., 2009; Ruppe M. с соавт., 2011; Kinoshita Y. с соавт., 2012) [124, 189,190,191]. Используемая нами методика высокопроизводительного секвенирования позволила провести одновременный анализ максимального числа генов, ассоциированных с нарушениями фосфорно-кальциевого обмена, чего ранее не проводилось, и обнаружить генетический дефект в гене *PHEX* в 90,2% случаев.

При семейной форме ГФР (n=45) мутации гена *PHEX* были выявлены в 100% случаев. Полученные результаты подчеркивают, что инактивирующие мутации гена *PHEX* являются основной причиной развития ГФР.

В представленной ранее работе Мусаевой А.В. с соавт. (2012) на основании только генеалогического анализа семей пациентов были выдвинуты предположения о преобладании наряду с X-сцепленным доминантным ГФР таких форм, как аутосомно-доминантный и аутосомно-рецессивный ГФР [192]. Однако в совокупности полученные нами данные свидетельствуют о преобладании X-сцепленного доминантного ГФР в российской популяции.

Фенотип-генотип корреляция при ГФР

В литературе противоречивыми являются данные по поводу наличия различий в тяжести проявлений ГФР между гемизиготными мужчинами и гетерозиготными женщинами с мутациями гена *PHEX*. Так, в работах Holm с соавт. (2001), Hee Y Cho с соавт. (2005) различий среди пациентов разного пола выявлено не было, авторами был сделан вывод об отсутствии «эффекта дозы» гена [189,193]. Ichikawa с соавт. (2013) на мышинной модели (HYP) подтвердили данный вывод [194]. В ранее выполненном исследовании Wang с соавт. (1999) объясняли отсутствие различий в клинике среди мышей HYP тем, что экспрессия гена *PHEX* со здоровой X-хромосомы у гетерозиготных самок составляет только 48-51 %, таким образом, наличие заболевания у самок (HYP/+) может быть обусловлено гаплонедостаточностью [195]. Принимая во внимание гендерные различия пациентов с выявленными мутациями в гене *PHEX*, мы показали, что у пациентов мужского пола риск развития абсцессов зубов был выше, чем у лиц женского пола ($p=0,01$). Подобные результаты согласуются с выводами в работе Whyte M.P. et al. (1996) [196].

Несмотря на то, что сравнительный анализ показал наличие наиболее тяжелых деформаций скелета у тех, кто имел мутации гена *PHEX*, приводящие к формированию стоп-кодона, нам не представляется возможным с полной уверенностью утверждать, что данные дефекты гена приводят к более тяжелому течению заболевания. На полученные результаты мог повлиять тот факт, что большинство пациентов (52%) в анамнезе имели многократные коррегирующие

операции на костях нижних конечностей, которые могли отразиться на степень выраженности деформаций на момент проводимого исследования.

При сравнении биохимических показателей (т.е. степень гипофосфатемии и гиперфосфатурии), достоверных различий между носителями различных типов мутаций не наблюдалось, подобный результат был получен и в зарубежных исследованиях [190, 192].

Таким образом, настоящее исследование впервые дало представление о структуре РПЗ в российской популяции, показало необходимость проведения дифференциальной диагностики состояний, проявляющихся клинической картиной рахита, с генетически обусловленными нарушениями фосфорно-кальциевого обмена, а также доказало признанную в большинстве популяций высокую распространенность ГФР среди других форм.

Высокая частота выявляемости генетического дефекта методом высокопроизводительного параллельного секвенирования для подтверждения врожденных форм рахита дает основания рекомендовать данный метод как приоритетный.

Оценка эффективности проводимой терапии

Значительная часть нашей работы была посвящена анализу эффективности проводимой терапии пациентам согласно установленной форме рахита.

Учитывая механизм развития ВДЗР 1А и 2А типов, основным способом лечения является применение активных метаболитов

витамина D (альфакальцидола ($1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$) или кальцитриола ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$)) в сочетании с препаратами кальция или без таковых. На фоне лечения редуцируются рахитические деформации скелета и нормализуются показатели фосфорно-кальциевого обмена, что и было отмечено у всех нами обследованных пациентов. Особого внимания заслуживает тот факт, что при данных формах рахита возможно наступление спонтанной ремиссии, которую предположительно можно объяснить существованием витамин-D-независимого механизма регуляции минерального обмена [100,194]. Возможно, используя данное предположение, а также раннее начало терапии высокими дозами нативного витамина D, можно объяснить отсутствие характерной клинической картины заболевания и нормализацию биохимических показателей крови у второй нами описываемой пациентки с ВДЗР 1А типа.

Как и во всем мире, так и в России, высокоэффективного способа лечения больных ГФР пока не найдено, а новые методики находятся на этапе клинических испытаний. Учитывая низкую доступность препаратов фосфора в России и малую выборку пациентов, получавших данную терапию, провести анализ эффективности оказалось достаточно сложно. Всем пациентам с открытыми зонами роста дозы фосфора назначались в расчете на вес пациента. Из 30 пациентов двое детей не смогли продолжить назначенную терапию по причине плохой переносимости препаратов. По нашим наблюдениям было отмечено, что у большинства детей (в 73% случаев), которые начали прием фосфорного буфера в первые 3 года жизни, прогрессии деформаций ног

не отмечалось за весь период наблюдения, у одной девочки деформации полностью отсутствовали. У пациентов с уже сформированными тяжелыми искривлениями нижних конечностей достичь исправления деформаций не удалось. В большинстве случаев (в 75% случаев) на фоне проводимого консервативного лечения динамика роста была удовлетворительной, у 20 пациентов (в 72% случаев) прогрессии в деформациях ног не наблюдалось.

Стоит отметить, что хирургическая коррекция деформаций нижних конечностей не может быть первоочередным способом лечения. Как известно, при правильно подобранной терапии во всех случаях с ВДЗР деформации нижних конечностей имеют полный регресс, что исключает необходимость проведения ортопедической коррекции.

Вопрос по выбору тактики и возраста проведения оперативной коррекции деформаций нижних конечностей при ГФР к настоящему времени остается нерешенным [198,199]. На примере нашей когорты пациентов с ГФР, из которой большинство перенесли оперативные вмешательства, можно увидеть, что наибольшее количество рецидивов деформаций имели те, кому коррегирующие остеотомии проводили в детском возрасте, а именно в период от 4 до 12 лет. С высокой вероятностью причина рецидивов заключается в сочетании двух факторов: характером заболевания - нарушение процесса минерализации костей, разрастание остеоида в условиях гипофосфатемии, а также быстрым ростом кости в длину в данный возрастной период и неспособность костей ног сохранить правильную

ось под тяжестью собственного веса. По данным Petje G. с соавт. (2008) рецидив деформаций после первой коррегирующей остеотомии составляет 90%, после повторной- 60%, у пациентов, которым операция выполнялась в возрасте старше 14 лет, повторные вмешательства потребовались в 30% случаев [198]. Безусловно, при выраженных деформациях ног, когда передвижения ребенка ограничены из-за болевого синдрома, а также имеется тяжелый косметический дефект и нарушение структуры крупных суставов нижних конечностей, проведение ортопедической коррекции в детском возрасте имеет полные основания, однако считаем, что тактика вмешательства должна согласовываться с патогенезом заболевания. Возможно, наиболее оптимальным методом при открытых зонах роста является проведение временного эпифизиодеза, тогда как коррегирующие остеотомии предпочтительно проводить в постпубертатном периоде [199,200]. Наши выводы согласуются с рекомендациями зарубежных клинических руководств по ГФР, в которых также основным способом лечения считается консервативная терапия, в то время как оперативные методы являются вспомогательными с предпочтением менее инвазивному методу- временному эпифизиодезу или методике управляемого роста (Carpenter T. с соавт., 2011; Novais E. с соавт., 2006; Linglart A. с соавт., 2014).

На момент проведения настоящего исследования в России не был доступен к применению новый препарат для лечения ГФ-рекомбинантная тканенеспецифичная щелочная фосфатаза, поэтому предоставить собственную оценку эффективности данного средства не

представляется возможным. Однако, на примере данных пациентов, можно подчеркнуть, что использование витамина Д, который назначался двоим детям до верификации диагноза, не имело терапевтического эффекта, а в некоторых случаях усугубило проявление гиперкальциурии.

По нашему опыту, в России многим пациентам без предварительного обследования в качестве профилактики рахита или уже при наличии клинически значимых проявлений заболевания рекомендуется прием витамина Д, что мы считаем необоснованным. Суммируя накопленные данные, мы настоятельно рекомендуем при подозрении на наличие рахита проводить комплексное обследование пациента, итогом которого может стать выявление редкой наследственной формы рахита, требующей иного способа лечения.

Полученный в процессе нашей работы опыт обследования и лечения детей с различными вариантами наследственного рахита лег в основу алгоритма ведения пациентов с подозрением на РПЗ (Приложение 2, рисунок 16 , стр.141).

ВЫВОДЫ

1. Анализ клинических проявлений РПЗ свидетельствует о высоком уровне morbidity, поздней диагностике и неадекватности проводимой терапии в данной группе. Среди наиболее частых проявлений отмечались деформации скелета (99%), мышечная гипотония (91%), патология зубов (89%) и задержка физического развития (63%).
2. Сравнительный анализ различных методов выявления гиперфосфатурии свидетельствует о высокой диагностической ценности индексов тубулярной реабсорбции фосфатов (TRP (%), TmP/GFR (ммоль/л)) в сравнении с рутинными методами определения фосфора в моче у пациентов с ГФР. В 44% случаев у пациентов с ГФР выявлен вторичный гиперпаратиреоз, который наиболее часто диагностировался у пациентов старше 18 лет (в 57,1% случаев).
3. Результаты молекулярно-генетического анализа свидетельствуют о преобладании дефектов гена *PHEX* как причины ГФР в структуре наследственных форм рахита. Дефекты гена *PHEX* выявлены у 83% пациентов, при этом 42 мутации являются ранее неописанными.
4. Высокая частота выявления генетической причины развития РПЗ (в 90,2% случаев) подтверждает высокую эффективность применения метода высокопроизводительного параллельного секвенирования.
5. Сравнительный ретроспективный анализ результатов хирургического и консервативного лечения ГФР указывает на ухудшение ростового

прогноза (в 77% случаев) после проведения коррегирующих остеотомий в детском возрасте, что свидетельствует о предпочтительном использовании препаратов фосфора в период активного роста у данной группы больных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для подтверждения гиперфосфаурии у детей с гипофосфатемическим рахитом необходимо исследование индексов тубулярной реабсорбции фосфатов (TRP, TmP/GFR).
2. Для генетической верификации наследственных форм рахита целесообразно использовать высокопроизводительное параллельное секвенирование с одновременным исследованием нескольких генов-кандидатов и в первую очередь исключать наличие у таких пациентов мутаций в гене *PHEX*.
3. На основании клинико-лабораторных и молекулярно-генетических данных, предложен алгоритм диагностики и лечения пациентов с различными формами наследственного рахита, диагностированными в раннем возрасте (Приложение 2, рисунок 16, стр.141).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД - аутосомно-доминантный тип
 АР - аутосомно-рецессивный тип
 ВДЗР - витамин-Д-зависимый рахит
 ВДЗР 1А - витамин-Д-зависимый рахит 1А типа
 ВДЗР 2А - витамин-Д-зависимый рахит 2А типа
 ВДРР - витамин-Д-резистентный рахит
 витамин Д, витамин D — холекальциферол
 ГФ - гипофосфатазия
 ГФР - гипофосфатемический рахит
 ИМТ – индекс массы тела
 НМП - низкомолекулярная протеинурия
 ПТГ - паратгормон
 ПЦР - полимеразно-цепная реакция
 РПЗ - рахитоподобные заболевания
 СКФ - скорость клубочковой фильтрации
 ЩФ, ALP- щелочная фосфатаза
 ТНЩФ - тканенеспецифическая щелочная фосфатаза
ALPL - ген тканенеспецифической щелочной фосфатазы
 Са - кальций
 Ca^{2+} - кальций ионизированный сыворотки крови, ммоль/л
CLCN5 - ген хлор-проводящего ионного канала 5
 СYP - цитохром, гидроксилаза
CYP24A1 - 24A1- гидроксилаза
CYP24A1 - ген 24A1-гидроксилазы
CYP27B1 - ген 27B1-гидроксилазы
 DBD-VDR- ДНК-связывающий домен рецептора витамина Д
DMP1 - ген, кодирующий белок матрицы дентина 1
 ENPP1 - ген эктонуклеотид/пирофосфатазы - фосфодиэстеразы 1
FAM20A, *FAM20B*, *FAM20C* — гены из семейства генов с соответствующей последовательностью типов 20A, 20B, 20C
 FGFR - рецептор фактора роста фибробластов
 FGF23 - фактор роста фибробластов 23
FGF23 - ген фактора роста фибробластов 23
 НУР - экспериментальная модель мыши с дефектом гена *PHEX*
 LBD-VDR- лиганд-связывающий домен рецептора витамина Д
 Ме - медиана
 NPT2a (Npt2a), NPT2b (Npt2b), NPT2c (Npt2c) - натрий-фосфорный котранспортер 2a, 2b, 2c
PHEX - фосфат-регулирующий ген с гомологией к эндопептидазам на X-хромосоме
 Pi, Ph - фосфор неорганический

RXR - ретиноид-Х- рецептор

VDR - рецептор витамина Д

VDR - ген рецептора витамина Д

SLC34A1 - ген натрий фосфорный котранспортера 2а типа

SLC34A3 - ген натрий фосфорный котранспортера 2с типа

SD – стандартное отклонение

TRP - тубулярная реабсорбция фосфатов

TmP/GFR - максимум тубулярной реабсорбции фосфатов к СКФ

1,25(OH)₂D₃ - 1,25-дигидроксистолекальциферол, кальцитриол

1(OH)D₃ – 1-ОН-гидроксистолекальциферол, альфакальцидол

Список литературы

1. Malloy PJ, Feldman D. Genetic disorders and defects in vitamin D action. *Rheum. Dis Clin North Am.* 2012 Feb; 38(1):93-106. doi: 10.1016/j.rdc.2012.03.009.
2. Cheng JB, Levine MA, Bell NH, Mangelsdorf DJ, Russell DW. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 101: 7711-7715, 2004.
3. Carpenter T.O. The expanding family of hypophosphatemic syndromes. *J Bone Miner Metab* 2012; 30:1-9.
4. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev.* 2016 Jan; 96(1): 365-408. doi: 10.1152/physrev.00014.2015.
5. Shore RM, Chesney RW. Rickets: Part I. *Pediatr Radiol.* 2013 Jan; 43(2):140-51. doi: 10.1007/s00247-012-2532-x
6. Shore RM, Chesney RW. Rickets: Part II. *Pediatr Radiol.* 2013 Jan; 43(2):152-72. doi: 10.1007/s00247-012-2536-6. Epub 2012 Nov 21.
7. Mughal MZ. Rickets *Curr Osteoporos Rep.* 2011 Dec; 9(4):291-9. doi: 10.1007/s11914-011-0081-0.
8. Pettifor JM. Vitamin D deficiency and nutritional rickets in children. In: Feldman D (ed) *Vitamin D*, 3rd edn. Elsevier, London, 2011, pp 1107–1128.
9. Bell TD, Demay MB, Burnett-Bowie SA. The biology and pathology of vitamin D control in bone. 2010 *J Cell Biochem* 111:7–13.
10. Wranicz J, Szostak-Węgierek D. Health outcomes of vitamin D. Part I. characteristics and classic role. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 2014; 65(3):179-84.
11. Запруднов А.М., Григорьев К.И. Рахит у детей/ А.М. Запруднов, К.И. Григорьев//Российский медицинский журнал.- 1997.-№6 - С. 19,
12. Шабалов Н.П. Детские болезни, том 2./ Н.П.Шабалов.- 5-е изд., перераб. и доп.- С-Пб.: СоТИС.-2002,- С. 219.

13. Новиков П.В. Рахит и наследственные рахитоподобные заболевания у детей: диагностика, лечение, профилактика: монография/ П.В.Новиков- Москва: Триада-Х, 2006-336 С.
14. O'Riordan JL. Rickets in the 17th century. *J Bone Miner Res.* 2006 Oct; 21(10):1506-10.
15. Deluca HF History of the discovery of vitamin D and its active metabolites *Bone key Rep.* 2014 Jan 8;3:479. doi: 10.1038/bonekey.2013.213.
16. Захарова, И.Н. Современный взгляд на патогенез и профилактику рахита у детей /И.Н. Захарова, Н.А. Коровина, Ю.А. Дмитриева // Практика педиатра. – 2012. –№ 3. – С. 34–40.
17. Feldman D, Malloy PJ, Gross C. Vitamin D: metabolism and action In: Marcus R, Feldman D, Kelsey J. *Osteoporosis* 1st ed San Diego: Academic Press; 1996. pp. 205-235.
18. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 80 (Supp 1.):1689S–1696S.
19. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest.* 2006 Aug 1; 116(8): 2062–2072 doi: 10.1172/JCI29449.
20. Anderson PA, May BK, Morris HA. Vitamin D Metabolism: New Concepts and Clinical Implications. *Clin Biochem Rev* 2003, February; Vol 24.
21. Zhu J, DeLuca HF. Vitamin D 25-hydroxylase: four decades of searching, are we there yet? *Arch Biochem Biophys* 523: 30–36, 2012.
22. Cheng JB, Motola DL, Mangelsdorf DJ. & Russell DW. De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase. 2003; *J. Biol.Chem.* 278, 38084–38093.
23. Adams JS, Hewison M. Extrarenal expression of the 25-hydroxyvitamin D-1-hydroxylase. *Arch Biochem Biophys.* 2012 Jul 1;523(1):95-102. doi: 10.1016/j.abb.2012.02.016.
24. Portale AA, Miller WL. Human 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase: cloning, mutations, and gene expression. *Pediatr Nephrol* 2000;14:620–625.

25. Kitanaka S, Murayama A, Sakaki T, Inouye K, Seino Y, Fukumoto S, Shima M, Yukizane S, Takayanagi M, Niimi H, Takeyama K, Kato S. No enzyme activity of 25-hydroxyvitamin D3 1-hydroxylase gene product in pseudovitamin D deficiency rickets, including that with mild clinical manifestation. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:4111–4117.
26. Fu GK, Portale AA, Miller WL Complete structure of the human gene for the vitamin D 1alpha-hydroxylase, P450c1alpha. *DNA Cell Biol.* 1997 Dec; 16(12):1499-507.
27. Chun RF, Peercy BE, Orwoll ES, et al. Vitamin D and DBP: the free hormone hypothesis revisited. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;144 Pt A:132-7. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.09.012.
28. Labuda M, Morgan K, Glorieux FH. Mapping autosomal recessive vitamin D dependency type 1 to chromosomal 12q14 by linkage analysis. *Am J Hum Genet* 1990; 47:28–36.
29. Margolis RN, Christakos S. The nuclear receptor superfamily of steroid hormones and vitamin D gene regulation. An update. *Ann NY Acad Sci* 1192: 208–214, 2010.
30. Rochel N, Wurtz JM, Mitschler A, Klaholz B & Moras D (2000) The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. *Mol Cell* 5: 173-179.
31. Orlov I, Rochel N, Moras D, Klaholz BP. Structure of the full human RXR/VDR nuclear receptor heterodimer complex with its DR3 target DNA. *EMBO J* 2012; 31: 291–300.
32. Morris HA. Vitamin D activities for health outcomes. *Ann Lab Med.* 2014 May; 34(3):181-6. doi: 10.3343/alm.2014.34.3.181.
33. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Endocrinol Metab Clin* 2010; 39: 255–269.

34. Malloy PJ, Pike JW, Feldman D. The vitamin D receptor and the syndrome of hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets. *Endocr Rev* 1999; 20: 156–188.
35. Li YC, Bolt MJ, Cao LP & Sitrin MD. Effects of vitamin D receptor inactivation on the expression of calbindings and calcium metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281: 558-564.
36. Van Cromphaut SJ, Dewerchin M, Hoenderop JG, Stockmans I, Van Herck E, Kato S, Bindels RJ, Collen D, Carmeliet P, Bouillon R, Carmeliet G. Duodenal calcium absorption in vitamin D receptor-knockout mice: functional and molecular aspects. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 13324–13329.
37. Christakos S, Lieben L, Masuyama R, Carmeliet G. Vitamin D endocrine system and the intestine. *Bone Key Reports* 3: 496, 2014.
38. Song Y, Peng X, Porta A, Takanaga H, Peng JB, Hediger MA, Fleet JC, Christakos S. Calcium transporter 1 and epithelial calcium channel messenger ribonucleic acid are differentially regulated by 1,25 dihydroxyvitamin D3 in the intestine and kidney of mice. *Endocrinology* 2003; 144: 3885–3894.
39. Hylander E, Ladefoged K, Jarnum S. Calcium absorption after intestinal resection. The importance of a preserved colon. *Scand J Gastroenterol* 1990; 25: 705–710.
40. Zhang W, Na T, Wu G, Jing H, Peng JB. Down-regulation of intestinal apical calcium entry channel TRPV6 by ubiquitin E3 ligase Nedd4-2. *J Biol Chem* 2010; 285: 36586–36596.
41. Williams KB, DeLuca HF. Characterization of intestinal phosphate absorption using a novel in vivo method. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: E1917–E1921.
42. Hoenderop JG, Dardenne O, Van Abel M, Van Der Kemp AW, Van Os CH, St-Arnaud R, Bindels RJ. Modulation of renal Ca²⁺ transport protein genes by dietary Ca²⁺ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase knockout mice. *FASEB J* 2002; 16: 1398–1406.

43. Hoenderop JG, van Leeuwen JP, van der Eerden BC, Kersten FF, van der Kemp AW, Merillat AM, Waarsing JH, Rossier BC, Vallon V, Hummler E, Bindels RJ. Renal Ca²⁺-wasting, hyperabsorption, and reduced bone thickness in mice lacking TRPV5. *J Clin Invest* 2003; 112: 1906–1914.
44. Andrukhova O, Smorodchenko A, Egerbacher M, Streicher C, Zeitz U, Goetz R, Shalhoub V, Mohammadi M, Pohl EE, Lanske B, Erben RG. FGF23 promotes renal calcium reabsorption through the TRPV5 channel. *EMBO J* 2014; 33: 229–246.
45. Masuyama R, Stockmans I, Torrekens S, Van Looveren R, Maes C, Carmeliet P, Bouillon R, Carmeliet G. Vitamin D receptor in chondrocytes promotes osteoclastogenesis and regulates FGF23 production in osteoblasts. *J Clin Invest* 2006; 116: 3150–3159.
46. Kim S, Yamazaki M, Zella LA, Shevde NK, Pike JW. Activation of receptor activator of NF-kappaB ligand gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ is mediated through multiple long-range enhancers. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 6469–6486.
47. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev* 1999; 20: 345–357.
48. Lieben L, Masuyama R, Torrekens S, Van Looveren R, Schrooten J, Baatsen P, Lafage-Proust MH, Dresselaers T, Feng JQ, Bonewald LF, Meyer MB, Pike JW, Bouillon R, Carmeliet G. Normocalcemia is maintained in mice under conditions of calcium malabsorption by vitamin D-induced inhibition of bone mineralization. *J Clin Invest* 2012; 122:1803–1815.
49. Ruggiero B, Padwa BL, Christoph KM, Zhou S, Glowacki J. Vitamin D metabolism and regulation in pediatric MSCs. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2015 Sep 15. pii: S0960-0760(15)30085-6. doi: 10.1016/j.jsbmb.2015.09.025.
50. Wagner CA, Hernando N, Forster IC, Biber J. The SLC34 family of sodium-dependent phosphate transporters. *Pflügers Arch* 2014; 466: 139–153.
51. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10: 1257–1272.

52. Bacic D, Lehir M, Biber J, Kaissling B, Murer H, Wagner CA. The renal Na/phosphate cotransporter NaPi-IIa is internalized via the receptor-mediated endocytic route in response to parathyroid hormone. *Kidney Int.* 2006; 69: 495–503.
53. Yu X, Ibrahimi OA, Goetz R, Zhang F, Davis SI, Garringer HJ, Linhardt RJ, Ornitz DM, Mohammadi M, White KE. Analysis of the biochemical mechanisms for the endocrine actions of fibroblast growth factor-23. *Endocrinology* 2005; 146: 4647–4656.
54. Wolf M., White K. Coupling FGF23 Production and Cleavage: Iron Deficiency, Rickets and Kidney Disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2014 July; 23(4): 411–419. doi:10.1097/01.mnh.0000447020.74593.6f
55. Li SA, Watanabe M, Yamada H, Nagai A, Kinuta M, Takei K. Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain, kidney, and reproductive organs of mice. *Cell Struct Funct* 2004; 29: 91–99.
56. Farrow EG, Davis SI, Summers LJ, White KE. Initial FGF23-mediated signaling occurs in the distal convoluted tubule. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 955–960.
57. Forster RE, Jurutka PW, Hsieh JC, Haussler CA, Lowmiller CL, Kaneko I, Haussler MR, Kerr Whitfield G. Vitamin D receptor controls expression of the anti-aging klotho gene in mouse and human renal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 414: 557–562.
58. Omdahla JL, Bobrovnikova EA, Choe S, Dwivedi PP, May BK. Overview of regulatory cytochrome P450 enzymes of the vitamin D pathway. *Steroids* 2001; 66: 381–389.
59. Kumar R, Vallon V. Reduced Renal Calcium Excretion in the Absence of Sclerostin Expression: Evidence for a Novel Calcium-Regulating Bone Kidney Axis. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25: 2159–2168. doi: 10.1681/ASN.2014020166.
60. Murayama A, Takeyama K, Kitanaka S, Kadera Y, Hosoya T, Kato S. The promoter of the human 25-hydroxyvitamin D3 1 alpha-hydroxylase gene confers positive and negative responsiveness to PTH, calcitonin, and 1 alpha,25(OH)2D3. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998 Aug 10; 249(1):11-6.

61. Chen KS, DeLuca HF Cloning of the human 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D-3 24-hydroxylase gene promoter and identification of two vitamin D-responsive elements. *Biochim Biophys Acta*. 1995 Jul 25; 1263(1):1-9.
62. Seth-Vollenweider T, Joshi S1, Dhawan P1, Sif S, Christakos S. Novel mechanism of negative regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D3-induced 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase (Cyp24a1) Transcription: epigenetic modification involving cross-talk between protein-arginine methyltransferase 5 and the SWI/SNF complex. *J Biol Chem*. 2014 Dec 5;289(49):33958-70. doi: 10.1074/jbc.M114.583302. Epub 2014 Oct 16.
63. Mornet E, Yvard , Taillandier A, Fauvert D, Simon-Bouy B. A molecular-based estimation of the prevalence of hypophosphatasia in the European population. *Ann Hum Genet*. 2011; 75: 439–445.
64. Baumgartner-Sigl, S. et al. Pyridoxine-responsive seizures as the first symptom of infantile hypophosphatasia caused by two novel missense mutations (c.677T>C, p.M226T; c.1112C>T, p. T371I) of the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene. *Bone* 2007; 40, 1655–1661.
65. Whyte MP, Essmyer K, Geimer, M. & Mumm, S. Homozygosity for TNSALP mutation 1348C>T (Arg 433Cys) causes infantile hypophosphatasia manifesting transient disease correction and variably lethal outcome in a kindred of black ancestry. *J. Pediatr*. 2006; 148, 753–758.
66. Shohat M, Rimoin DL, Gruber HE, Lachman RS. Perinatal lethal hypophosphatasia; clinical, radiologic and morphologic findings. *Pediatr Radiol*. 1991;21(6):421-7.
67. Волков А.Е., Волошин В.В., Лукаш А.И., Рымашевский А.Н., Лукаш Ю.В., Филиппский Е.С. Пренатальная диагностика редких врожденных пороков и синдромов. XL. Гипофосфатазия. Издание Пренатальная диагностика. 2009; № 4: 331-335.
68. Fraser D. Hypophosphatasia. *Am. J. Med*. 1957; 22,730–746.

69. Whyte MP. Hypophosphatasia - aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2016 Apr; 12(4):233-46. doi: 10.1038/nrendo.2016.14.
70. Lundgren T, Westphal O, Bolme P, Modeer T, Noren JG. Retrospective study of children with hypophosphatasia with reference to dental changes. *Scand. J. Dent. Res*. 1991; 99, 357–364.
71. El Labban NG, Lee KW, Rule D. Permanent teeth in hypophosphatasia: light and electron microscopic study. *J. Oral Pathol. Med*. 1991; 20, 352–360.
72. Rathbun JC. Hypophosphatasia: a new developmental anomaly. *Am. J. Dis. Child*. 1948; 75, 822–831.
73. Mornet E. Tissue nonspecific alkaline phosphatase gene mutations database. SESEP [online], [http:// www.sesep.uvsq.fr/03_hypo_mutations.php](http://www.sesep.uvsq.fr/03_hypo_mutations.php) (дата обращения 05.02.2016).
74. Zurutuza, L., Muller, F., Gibrat, J. F., Taillandier, A., Simon-Bouy B., Serre J. and Mornet E. Correlations of genotype and phenotype in hypophosphatasia. *Hum. Mol. Genet*. 1998, 8 (6): 1039-1046.
75. Whyte MP, Rockman-Greenberg C, Ozono K, Riese R, Moseley S, Melian A, Thompson DD, Bishop N, Hofmann C. J. Asfotase Alfa Treatment Improves Survival for Perinatal and Infantile Hypophosphatasia. *Clin Endocrinol Metab*. 2016 Jan; 101(1):334-42. doi: 10.1210/jc.2015-3462.
76. Fraser D, Kooh SW, Kind HP, Holick MF, Tanaka Y, DeLuca HF. Pathogenesis of hereditary vitamin-D-dependent rickets. An inborn error of vitamin D metabolism involving defective conversion of 25-hydroxyvitamin D to 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D. *N Eng J Med*. 1973; Oct 18; 289(16):817-22.
77. Dardenne O, Prud'homme J, Arabian A, Glorieux FH, St-Arnaud R. Targeted inactivation of the 25 hydroxyvitamin D(3)-1 (alpha)-hydroxylase gene (CYP27B1) creates an animal model of pseudovitamin D-deficiency rickets. *Endocrinology* 2001; 142:3135-3141.
78. База мутаций генов человека Human Gene Mutation Database, <http://www.hgmd.cf.ac.uk> (дата обращения 21.01.15).

79. Kim CJ, Kaplan LE, Perwad F, Huang N, Sharma A, Choi Y, Miller WL, Portale AA. Vitamin D 1alpha-hydroxylase gene mutations in patients with 1alpha-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Aug; 92(8):3177-82.
80. Ito N, Peña AS, Perano S, Atkins GJ, Findlay DM, Couper JJ First Australian report of vitamin D-dependent rickets type I. *Med J Aust.* 2014 Oct 6;201(7):420-1.
81. Wang X, Zhang MYH, Miller WL, Portale AA Novel gene mutations in patients with 1-hydroxylase deficiency that confer partial enzyme activity in vitro. 2002; *J Clin Endocrinol Metab* 87:2424–2430.
82. Zhu JG, Ochalek JT, Kaufmann M, Jones G, Deluca HF. CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 15650 –15655.
83. Casella SJ, Reiner BJ, Chen TC, Holick MF, Harrison, H. E.A possible genetic defect in 25-hydroxylation as a cause of rickets.*J. Pediatr.* 1994; 124: 929-932.
84. Wang JT, Lin CJ, BurrIDGE SM, Fu G K, Labuda M, Portale A A, Miller W L. Genetics of vitamin D 1alpha-hydroxylase deficiency in 17 families. *Am J Hum Genet.* 1998 Dec; 63(6): 1694–1702. doi:10.1086/302156.
85. De Braekeleer M. Hereditary disorders in Saguenay-Lac- St-Jean (Quebec, Canada). *Hum Hered.* 1991; 41:141–146.
86. Foster BL, Ramnitz MS, Gafni RI, Burke AB, Boyce AM, Lee JS, Wright JT, Akintoye SO, Somerman MJ, Collins MT.Rare bone diseases and their dental, oral, and craniofacial manifestations . *J Dent Res.* 2014 Jul; 93(7 Suppl):7S-19S. doi: 10.1177/0022034514529150.
87. Feldman D, Malloy PJ. Mutations in the vitamin D receptor and hereditary vitamin D-resistant rickets. *Bone Key Reports* 2014; 3: 510.
88. Casey G, McPherson T, Kini U, Ryan F, Taibjee SM, Moss C, Burge S.Pediatr Dermatol. Hereditary vitamin D-resistant rickets presenting as alopecia.2014 Jul-Aug;31(4):519-20. doi: 10.1111/pde.12327. Epub 2014 Jun 11.

89. Hsieh JC, Sisk JM, Jurutka PW, et al. Physical and functional interaction between the vitamin D receptor and hairless corepressor, two proteins required for hair cycling. *J Biol Chem* 2003; 278:38665–74. [PubMed: 12847098]
90. Skoriya K, Cox M, Sisk JM, et al. Ligand-independent actions of the vitamin D receptor maintain hair follicle homeostasis. *Mol Endocrinol* 2005; 19:855–62.
91. Wang J, Malloy PJ, Feldman D. Interactions of the vitamin D receptor with the corepressor hairless: analysis of hairless mutants in atrichia with papular lesions. *J Biol Chem* 2007; 282:25231–39.
92. Malloy PJ, Xu R, Peng L, et al. A novel mutation in helix 12 of the vitamin D receptor impairs coactivator interaction and causes hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets without alopecia. *Mol Endocrinol* 2002; 16:2538–46.
93. Malloy PJ, Zhou Y, Wang J, Hiort O, Feldman D. Hereditary vitamin D-resistant rickets (HVDRR) owing to a heterozygous mutation in the vitamin D receptor. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2710–2718.
94. Jurutka PW, Hsieh JC, Remus LS, Whitfield GK, Thompson PD, Haussler CA, Blanco JC, Ozato K, Haussler MR. Mutations in the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor identifying C-terminal amino acids required for transcriptional activation that are functionally dissociated from hormone binding, heterodimeric DNA binding, and interaction with basal transcription factor IIB, in vitro. *J Biol Chem* 1997; 272:14592–14599.
95. Li YC, Amling M, Pirro AE, Priemel M, Meuse J, Baron R, Delling G, Demay MB. Normalization of mineral ion homeostasis by dietary means prevents hyperparathyroidism, rickets, and osteomalacia, but not alopecia in vitamin D receptor-ablated mice. *Endocrinology* 1998; 139: 4391– 4396.
96. Panda DK, Miao D, Bolivar I, Li J, Huo R, Hendy GN, Goltzman D. Inactivation of the 25-hydroxyvitamin D 1 α -hydroxylase and vitamin D receptor demonstrates independent and interdependent effects of calcium and vitamin D on skeletal and mineral homeostasis. *J Biol Chem* 2004; 279: 16754 –16766.

97. Xue Y, Fleet JC. Intestinal vitamin D receptor is required for normal calcium and bone metabolism in mice. *Gastroenterology* 2009; 136: 1317–1327.
98. Tiosano D, Hadad S, Chen Z, Nemirovsky A, Gepstein V, Militianu D, Weisman Y, Abrams SA. Calcium absorption, kinetics, bone density, and bone structure in patients with hereditary vitamin D-resistant rickets. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 3701–3709.
99. Donohue MM, Demay MB. Rickets in VDR null mice is secondary to decreased apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Endocrinology* 2002; 143: 3691–3694.
100. Sabbagh Y, Carpenter TO, Demay MB. Hypophosphatemia leads to rickets by impairing caspase-mediated apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 9637–9642.
101. Huang K, Malloy P, Feldman D, Pitukcheewanont P. Enteral calcium infusion used successfully as treatment for a patient with hereditary vitamin D resistant rickets (HVDRR) without alopecia: a novel mutation. *Gene*. 2013 Jan 10;512(2):554-9. doi: 10.1016/j.gene.2012.09.078.
102. Nguyen TM, Adiceam P, Kottler ML, Guillozo H, Rizk-Rabin M, Brouillard F, Lagier P, Palix C, Garnier JM, Garabedian M. Tryptophan missense mutation in the ligand-binding domain of the vitamin D receptor causes severe resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D. *J Bone Miner Res*. 2002; 17:1728–1737
103. Damiani FM, Martin RM, Latronico AC, Ferraz-de-Souza B. Normal bone mass and normocalcemia in adulthood despite homozygous vitamin D receptor mutations. *Osteoporos Int*. 2015 Jun; 26(6):1819-23. doi: 10.1007/s00198-015-3076-3.
104. Durmaz E, Zou M, Al-Rijjal RA, Bircan I, Akçurin S, Meyer B, Shi Y. Clinical and genetic analysis of patients with vitamin D-dependent rickets type 1A. *Clinical Endocrinology*. 2012; 77, 363–369 doi: 10.1111/j.1365-2265.2012.04394.x.
105. Malloy PJ, Feldman D. The Role of Vitamin D Receptor Mutations in the Development of Alopecia. *Mol Cell Endocrinol*. 2011 December 5; 347(1-2): 90–96. doi:10.1016/j.mce.2011.05.045.

106. Carpenter TO, Imel EA, Holm IA, Jan de Beur SM, Insogna KL. A clinician's guide to X-linked hypophosphatemia. *J Bone Miner Res.* 2011 Jul;26(7):1381-8. Doi: 10.1002/jbmr.340.
107. Brachet C, Mansbach AL, Clerckx A, Deltenre P, Heinrichs C. Hearing loss is part of the clinical picture of ENPP1 loss of function mutation. *Horm Res Paediatr.* 2014; 81(1):63-6. doi: 10.1159/000354661.
108. Raeder H, Rafaelsen S, Bjerknes R. Monogenic phosphate balance disorders, *Contemporary Aspects of Endocrinology*, Dr. Evanthia Diamanti-Kandarakis (Ed.) 2011 ISBN: 978-953-307-357-6, InTech.
109. Sabbagh Y, Jones AO & Tenenhouse HS. PHEXdb, a locus-specific database for mutations causing X-linked hypophosphatemia. *Human Mutation* 2000 16 1–6. (doi:10.1002/1098-1004(200007) <http://www.phexdb.mcgill.ca/>
110. Turner AJ, Tanzawa K. Mammalian membrane metalloproteinases: NEP, ECE, KELL, and PEX. *FASEB J.* 1997 Apr; 11(5):355-64.
111. Sabbagh Y, Boileau G, Campos M, Carmona AK, Tenenhouse HS Structure and function of disease-causing missense mutations in the PHEX gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:2213–2222.
112. Tenenhouse S, Sabbagh Yves Novel phosphate-regulating genes in the pathogenesis of renal phosphate wasting disorders. *Eur J Physiol* (2002) 444:317–326 DOI 10.1007/s00424-002-0839-4.
113. Dixon PH, Christie PT, Wooding C, Trump D, Grief M, Holm I. et al. Mutational analysis of PHEX gene in X-linked hypophosphatemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998; 83, 3615–3623.
114. Tynismaa H, Kaitila I, Nanto-Salonen K, Ala-Houhala M, Alitalo T. Identification of fifteen novel PHEX gene mutations in Finnish patients with hypophosphatemic rickets. *Hum Mutat* 2000; 15: 383-4.
115. Jan de Beur SM, Levine MA. Molecular pathogenesis of hypophosphatemic rickets. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(6):2467-2473.

116. Thompson DL, Sabbagh Y, Tenenhouse HS, Roche PC, Drezner MK, Salisbury JL, et al. Ontogeny of Phex/PHEX protein expression in mouse embryo and subcellular localization in osteoblasts. *J Bone Miner Res.* 2002;17:311–320.
117. Rowe PS. The wrickkened pathways of FGF23, MEPE and PHEX. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine.* 2004; 15(5):264–281.
118. Levine S, Charles R. Kleeman, Felsenfeld AJ. The Journey From Vitamin D–Resistant Rickets to the Regulation of Renal Phosphate Transport. *J Bone Miner Res.* 2004 Mar;19(3):429-35.
119. Du L, Desbarats M, Viel J, Glorieux FH, Cawthorn C, Ecarot B. cDNA cloning of the murine Pex gene implicated in X-linked hypophosphatemia and evidence for expression in bone. *Genomics.* 1996 Aug 15; 36(1):22-8.
120. Ruchon AF, Tenenhouse HS, Marcinkiewicz M, Siegfried G, Aubin JE, DesGroseillers L, Crine P, Boileau G Developmental expression and tissue distribution of Phex protein: effect of the Hyp mutation and relationship to bone markers. *J Bone Miner Res* 2000; 15:1440–1450
121. Strom TM, Francis F, Lorenz B, et al. Pex gene deletions in Gy and Hyp mice provide mouse models for X-linked hypophosphatemia. *Hum Mol Genet.* 1997; 6:165–171.
122. Quarles LD. FGF23, PHEX, and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285: E1-9.
123. Garabedian M Regulation of phosphate homeostasis in infants, children, and adolescents, and the role of phosphatonins in this process. *Curr. Opin Pediatr.* 2007 Aug; 19(4):488-91.
124. Ruppe MD, Brosnan PG, Au KS, Tran PX, Dominguez BW, Northrup H. Mutational analysis of PHEX, FGF23 and DMP1 in a cohort of patients with hypophosphatemic rickets. *Clin. Endocrinol.* 2011; 74, 312–318.
125. Razali NN, Hwu TT, Thilakavathy K. Phosphate homeostasis and mutations of hypophosphatemic rickets. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2015 Apr 18.

- pii:/j/jpem.ahead-of-print/jpem-2014-0366/jpem-2014-0366.xml.doi:10.1515/jpem-2014-0366.
126. Scheinman SJ. Genetics of nephrolithiasis. *Semin Nephrol.*1999; 19:381–8
 127. Devuyst O, Thakker RV. Dent's disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2010 Oct 14;5:28. doi: 10.1186/1750-1172-5-28.
 128. Scheel O, Zdebik AA, Lourdel S, Jentsch TJ: Voltage-dependent electrogenic chloride/proton exchange by endosomal CLC proteins. *Nature* 2005, 436:424-427.
 129. Jentsch T.J. Chloride channels are different. *Nature* 2002; 415:276-277.
 130. Mansour-Hendili L, Blanchard A, Le Pottier N, Roncelin I, Lourdel S, Treard C, González W, Vergara-Jaque A, Morin G, Colin E, Holder-Espinasse M, Bacchetta J, Baudouin V, Benoit S, Bérard E, Bourdat-Michel G, Bouchireb K, Burtey S, Cailliez M, Cardon G, Cartery C, Champion G, Chauveau D, Cochat P, Dahan K, De la Faille R, Debray FG, Dehoux L, Deschenes G, Desport E, et al. Mutation update of the CLCN5 gene responsible for Dent disease 1. *Hum Mutat.* 2015 Aug;36(8):743-52. doi: 10.1002/humu.22804.
 131. Scheinman SJ, Pook MA, Wooding C, Pang JT, Frymoyer PA, Thakker RV. Mapping the gene causing X-linked recessive nephrolithiasis to xp11.22 by linkage studies. *J Clin Invest.*1993;91:2351–7.
 132. Bianchine JW, Stambler AA, Harrison HE. Familial hypophosphatemic rickets showing autosomal dominant inheritance. *Birth Defects Orig. Art. Ser.* VII(6): 287-294, 1971.
 133. ADHR-Consortium. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet.* 2000; 26:345–348.
 134. Econs MJ, McEnery PT. Autosomal dominant hypophosphatemic rickets/osteomalacia: clinical characterization of a novel renal phosphate-wasting disorder. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82:674–681.

135. White KE, Carn G, Lorenz-Depiereux B, Benet-Pages A, Strom TM, Econs MJ. Autosomal- dominant hypophosphatemic rickets (ADHR) mutations stabilize FGF-23. *Kidney Int.* 2001; 60:2079–2086.
136. Goldsweig BK, Carpenter TO. Hypophosphatemic rickets: lessons from disrupted FGF23 control of phosphorus homeostasis. *Curr Osteoporos Rep.* 2015 Apr;13(2):88-97. doi: 10.1007/s11914-015-0259-y.
137. Shimada T, Muto T, Urakawa I, Yoneya T, Yamazaki Y, Okawa K, et al. Mutant FGF-23 responsible for autosomal dominant hypophosphatemic rickets is resistant to proteolytic cleavage and causes hypophosphatemia in vivo. *Endocrinology.* 2002; 143: 3179–3182.
138. Burnett SM, Gunawardene SC, Bringhurst FR, Juppner H, Lee H, Finkelstein JS. Regulation of C- terminal and intact FGF-23 by dietary phosphate in men and women. *J Bone Miner Res.* 2006; 21:1187–1196.
139. Perwad F, Azam N, Zhang MY, Yamashita T, Tenenhouse HS, Portale AA. Dietary and serum phosphorus regulate fibroblast growth factor 23 expression and 1,25-dihydroxyvitamin D metabolism in mice. *Endocrinology.* 2005; 146:5358–5364.
140. Jonsson K.B. The role of fibroblast growth factor 23 in renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20: 479–482.
141. Imel EA, Peacock M, Gray AK, Padgett LR, Hui SL, Econs MJ. Iron modifies plasma FGF23 differently in autosomal dominant hypophosphatemic rickets and healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96:3541–3549.
142. Chong WH, Molinolo AA, Chen CC, Collins MT. Tumor-induced osteomalacia. *Endocr Relat Cancer.* 2011 Jun 8;18(3):R53-77. doi: 10.1530/ERC-11-0006.
143. Lee JC, Jeng YM, Su SY, Wu CT, Tsai KS, Lee CH, Lin CY, Carter JM, Huang JW, Chen SH, Shih SR, Marino-Enriquez A, Chen CC, Folpe AL, Chang YL, Liang CW 2015 Identification of a novel FN1-FGFR1 genetic fusion as a

- frequent event in phosphaturic mesenchymal tumour. *The Journal of pathology* 235:539-545. doi: 10.1002/path.4465.
144. Avitan-Hersh E, Tatur S, Indelman M, Gepstein V, Shreter R, HersHKovitz D, Brick R, Bergman R, Tiosano D. Postzygotic HRAS mutation causing both keratinocytic epidermal nevus and thymoma and associated with bone dysplasia and hypophosphatemia due to elevated FGF23. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Jan;99(1):E132-6. doi: 10.1210/jc.2013-2813.
 145. Lorenz-Depiereux B, Bastepe M, Benet-Pages A, Amyere M, Wagenstaller J, Muller-Barth U, Badenhoop K, Kaiser SM, Rittmaster RS. et al. DMP1 mutations in autosomal recessive hypophosphatemia implicate a bone matrix protein in the regulation of phosphate homeostasis. *Nature Genet.* 2006. 38: 1248-1250.
 146. Perry W, Stamp TC. Hereditary hypophosphataemic rickets with autosomal recessive inheritance and severe osteosclerosis. A report of two cases. *J Bone Joint Surg Br.* 1978; 60-B:430-4.
 147. Lorenz-Depiereux B, Schnabel D, Tiosano D, Hausler G, Strom TM. Loss-of-function ENPP1 mutations cause both generalized arterial calcification of infancy and autosomal-recessive hypophosphatemic rickets. *Am. J. Hum. Genet.* 2010. 86: 267-272.
 148. Rutsch F, Rui N, Vaingankar S, Toliat MR, Suk A, Hohne W, Schauer G, Lehmann M, Roscioli T, Schnabel D, Epplen J T, Knisely A. and 10 others. Mutations in ENPP1 are associated with 'idiopathic' infantile arterial calcification. *Nature Genet.* 2003. 34: 379-381.
 149. Levy-Litan V, HersHKovitz E, Avizov L, Leventhal N, Bercovich D, Chalifa-Caspi V, Manor E, Buriakovsky S, Hadad Y, Goding J, Parvari R. Autosomal-recessive hypophosphatemic rickets is associated with an inactivation mutation in the ENPP1 gene. *Am. J. Hum. Genet.* 2010. 86:t 273-278.
 150. Tieder M, Modai D, Samuel R, Arie R, Halabe A, Bab I, Gabizon D, Liberman U. A. Hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria. *New Eng. J. Med.* 1985; 312: 611-617.

151. Lorenz-Depiereux B, Benet-Pages A, Eckstein G, Tenenbaum-Rakover Y. et al. Hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria is caused by mutations in the sodium-phosphate cotransporter gene SLC34A3. *Am. J. Hum. Genet.* 2006; 78: 193-201. doi: 10.1086/499410.
152. Segawa H, Kaneko I, Takahashi A, Kuwahata M, Ito M, Ohkido I, Tatsumi S, Miyamoto K. Growth-related renal type II Na/Pi cotransporter. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 19665-19672. doi: 10.1074/jbc.M200943200.
153. Tenenhouse HS, Martel J, Gauthier C, Segawa H, Miyamoto K. Differential effects of Npt2a gene ablation and X-linked Hyp mutation on renal expression of Npt2c. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285:F1271–F1278.
154. Murer H, Forster I, Biber J. The sodium phosphate cotransporter family SLC34. *Pflugers Arch* 2004; 447:763–767. doi: 10.1007/s00424-003-1072-5.
155. Ichikawa S, Tuchman S, Padgett LR, Gray AK, Baluarte HJ, Econs MJ. Intronic deletions in the SLC34A3 gene: a cautionary tale for mutation analysis of hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria. *Bone*. 2014 Feb;59:53-6. doi: 10.1016/j.bone.2013.10.018.
156. Lal D, Neubauer BA, Toliat MR, Altmüller J, Thiele H, Nürnberg P, Kamrath C, Schänzer A, Sander T, Hahn A, Nothnagel M. Increased Probability of Co-Occurrence of Two Rare Diseases in Consanguineous Families and Resolution of a Complex Phenotype by Next Generation Sequencing. *PLoS One*. 2016 Jan 20;11(1):e0146040. doi: 10.1371/journal.pone.0146040.
157. Rafaelsen SH, Raeder H, Fagerheim AK, Knappskog P, Carpenter TO, Johansson S, Bjerknes R. Exome sequencing reveals FAM20c mutations associated with fibroblast growth factor 23-related hypophosphatemia, dental anomalies, and ectopic calcification. *J Bone Miner Res*. 2013 Jun; 28(6):1378-85. doi: 10.1002/jbmr.1850.
158. Fradin M, Stoetzel C, Muller J, Koob M, Christmann D, Debry C, Kohler M, Isnard M, Astruc D, Desprez P, Zorres C, Flori E, Dollfus H, Doray

- B.Osteosclerotic bone dysplasia in siblings with a Fam20C mutation.Clin Genet. 2011; 80(2):177–83.
159. Hao J, Narayanan K, Muni T, Ramachandran A, George A. Dentin matrix protein 4 a novel secretory calcium-binding protein that modulates odontoblast differentiation. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 15357-15365.
 160. Vogel P, Hansen GM, Read RW, Vance RB, Thiel M, Liu J, Wronski TJ, Smith DD, Jeter-Jones S, Brommage R. Amelogenesis imperfecta and other biomineralization defects in Fam20a and Fam20c null mice. *Vet. Path.* 2012; 49: 998-1017.
 161. Wang X, Wang S, Li C et al. Inactivation of a novel FGF23 regulator, FAM20C, leads to hypophosphatemic rickets in mice. *PLoS Genet* 2012; 8: e1002708. doi: 10.1371/journal.pgen.1002708.
 162. Brownstein CA, Adler F, Nelson-Williams C et al. A translocation causing increased alpha-klotho level results in hypophosphatemic rickets and hyperparathyroidism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 3455–3460.
 163. White KE, Cabral JM, Davis SI et al. Mutations that cause osteoglophonic dysplasia define novel roles for FGFR1 in bone elongation. *Am J Hum Genet* 2005;76:361–67.
 164. Courbebaisse M, Leroy C, Bakouh N et al. A new human NHERF1 mutation decreases renal phosphate transporter NPT2a expression by a PTH- independent mechanism. *PLoS ONE* 2012; 7: e34764.
 165. Magen D, Berger L, Coady MJ, Ilivitzki A. et al. A loss-of-function mutation in NaPi-IIa and renal Fanconi's syndrome.*New Eng. J. Med.* 2010; 362: 1102-1109.
 166. Klootwijk E, Reichold M, Helip-Wooley A, Tolaymat A. et al. Mistargeting of peroxisomal EHHADH and inherited renal Fanconi's syndrome. *New Eng. J. Med.* 2014; 370: 129-138.

167. Saggese G, Baroncelli G, Bertelloni S, Perri G. Long-term growth hormone treatment in children with renal hypophosphatemic rickets: Effects on growth, mineral metabolism, and bone density. *J Pediatr.* 1995; 127:395–402.
168. Makitie O, Toiviainen-Salo S, Marttinen E, Kaitila I, Sochett E, Sipila I. Metabolic control and growth during exclusive growth hormone treatment in X-linked hypophosphatemic rickets. *Horm Res.* 2008; 69:212–20.
169. Che H, Roux C, Etcheto A, Rothenbuhler A, Kamenicky P, Linglart A, Briot K. Impaired quality of life in adults with X-linked hypophosphatemia and skeletal symptoms. *Eur J Endocrinol.* 2016 Mar;174(3):325-33. doi: 10.1530/EJE-2015-0661.
170. Yamazaki Y, Tamada T, Kasai N, et al. Anti-FGF23 neutralizing antibodies show the physiological role and structural features of FGF23. *J Bone Miner Res.* 2008;23(9):1509–1518.
171. Carpenter TO, Imel EA, Ruppe MD, et al. Randomized trial of the anti-FGF23 antibody KRN23 in X-linked hypophosphatemia. *J Clin Invest.* 2014;124:1587–1597.
172. Zhang X, Imel EA, Ruppe MD, et al. Pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of a human anti-FGF23 antibody (KRN23) in a long-term extension study of adults with X-linked hypophosphatemia (XLH). *J Bone Miner Res.* 2014;29(suppl 1):S483.
173. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, Ramensky VE, Gerasimova A, Bork P, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nature methods* 2010; 7: 248-9.
174. Sunyaev S, Ramensky V, Bork P. Towards a structural basis of human non-synonymous single nucleotide polymorphisms. *Trends in genetics* 2000;16: 198-200
175. den Dunnen JT, Antonarakis E. Hum Genet Nomenclature for the description of human sequence variations. 2001; 109:121–124 DOI 10.1007/s004390100505.

176. Hoopes RR Jr, Hueber PA, Reid RJ Jr, Braden GL, Goodyer PR, Melnyk AR, Midgley JP, Moel DI, Neu AM, VanWhy SK, Scheinman SJ. CLCN5 chloride-channel mutations in six new North American families with X-linked nephrolithiasis. *Kidney Int.* 1998 Sep;54(3):698-705.
177. Molin A, Baudoin R, Kaufmann M, Souberbielle JC, Ryckewaert A, Vantyghem MC, Eckart P, Bacchetta J, Deschenes G, Kesler-Roussey G, Coudray N, Richard N, Wraich M, Bonafiglia Q, Tiulpakov A, Jones G, Kottler ML. CYP24A1 Mutations in a Cohort of Hypercalcemic Patients: Evidence for a Recessive Trait. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Oct;100(10):E1343-52. doi: 10.1210/jc.2014-4387.
178. Schlingmann KP, Kaufmann M, Weber S, et al. Mutations in CYP24A1 and idiopathic infantile hypercalcemia. *N Engl J Med.* 2011;365:410 – 421. doi: 10.1056/NEJMoa1103864.
179. Wang X, Zhang MYH, Miller WL, Portale AA Novel gene mutations in patients with 1-hydroxylase deficiency that confer partial enzyme activity in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:2424–2430.
180. Malloy PJ, Zhu W, Bouillon R, Feldman D. A novel nonsense mutation in the ligand binding domain of the vitamin D receptor causes hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets. *Mol Genet Metab.* 2002; 77:314–318.
181. Ali S. Alzahrani, Minjing Zou, Essa Y. Baitei, Omalkhaire M. Alshaikh, Roua A. Al-Rijjal, Brian F. Meyer, Yufei Shi. A Novel G102E Mutation of CYP27B1 in a Large Family with Vitamin D-Dependent Rickets Type 1. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2010 September, 95(9):4176–4183.
182. Malloy PJ, Tasic V, Taha D, Tütüncüler F, Ying GS, Yin LK, Wang J, Feldman D Vitamin D receptor mutations in patients with hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets. *Mol Genet Metab.* 2014 Jan;111(1):33-40. doi: 10.1016/j.ymgme.2013.10.014.
183. Foster BL, Nociti FH Jr, Somerman MJ. The rachitic tooth. *Endocr Rev.* 2014 Feb;35(1):1-34. doi: 10.1210/er.2013-1009.

184. Sekine T, Komoda F, Miura K, Takita J, Shimadzu M, Matsuyama T, Ashida A, Igarashi T. Japanese Dent disease has a wider clinical spectrum than Dent disease in Europe/USA: genetic and clinical studies of 86 unrelated patients with low-molecular-weight proteinuria. *Nephrol Dial Transplant*. 2014 Feb;29(2):376-84. doi: 10.1093/ndt/gft394.
185. Matos V, van Melle G, Boulat O, et al. Urinary phosphate/creatinine, calcium/creatinine, and magnesium/creatinine ratios in a healthy pediatric population. *J Pediatr* 1997; 131: 252–7.
186. Koyun M, Güven AG, Filiz S, Akman S, Akbas H, Baysal YE, Dedeoglu N. Screening for hypercalciuria in schoolchildren: what should be the criteria for diagnosis? *Pediatr Nephrol*. 2007 Sep;22(9):1297-301. Epub 2007 Jun 5.
187. So NP, Osorio AV, Simon SD, Alon US. Normal urinary calcium/creatinine ratios in African-American and Caucasian children. *Pediatr Nephrol*. 2001 Feb;16(2):133-9.
188. Metz MP. Determining urinary calcium/creatinine cut-offs for the paediatric population using published data. *Ann Clin Biochem*. 2006 Sep;43(Pt 5):398-401.
189. Holm IA, Nelson AE, Robinson BG, Mason RS, Marsh DJ, Cowell CT. et al. Mutational analysis and genotype-phenotype correlation of the PHEX gene in X-linked hypophosphatemic rickets. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2001; 86, 3889–3899.
190. Gaucher C, Walrant-Debray O, Nguyen TM, Esterle L, Garabedian M. & Jehan F. PHEX analysis in 118 pedigrees reveals new genetic clues in hypophosphatemic rickets. *Journal of human genetics* 2009 125 401–411. doi: 10.1007/s00439-009-0631-z.
191. Kinoshita Y, Saito T, Shimizu Y, Hori M, Taguchi M, Igarashi T, Fukumoto S, Fujita T. Mutational analysis of patients with FGF23-related hypophosphatemic rickets. *Eur J Endocrinol*. 2012 Aug;167(2):165-72. doi: 10.1530/EJE-12-0071.

192. Мусаева А.В. Катамнез детей и подростков с витамин-D- резистентным гипофосфатемическим рахитом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.08/Мусаева Алла Видадиевна; ГБОУ ВПО СПбГПМА МЗ РФ - СПб.- 2012.-19 с.
193. Cho HY, Lee BH, Kang JH, Ha IS, Cheong HI & Choi Y. A clinical and molecular genetic study of hypophosphatemic rickets in children. *Pediatr. Res.* 58, 329–333 (2005).
194. Ichikawa S, Gray AK, Bikorimana E, Econs MJ. Dosage effect of a PheX mutation in a murine model of X-linked hypophosphatemia. *Calcif Tissue Int.* 2013 Aug; 93(2):155-62. doi: 10.1007/s00223-013-9736-4.
195. Wang L, Du L, Ecarot B. Evidence for PheX haploinsufficiency in murine X-linked hypophosphatemia. *Mamm Genome.* 1999 Apr; 10(4):385-9.
196. Whyte MP, Schranck FW, Armamento-Villareal R. X-linked hypophosphatemia: a search for gender, race, anticipation, or parent of origin effects on disease expression in children. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996 Nov; 81(11):4075-80.
197. Kitanaka S, Murayama A, Sakaki T, Inouye K, Seino Y, Fukumoto S, Shima M., Yukizane S, Takayanagi M, Niimi H, Takeyama K, Kato S. No enzyme activity of 25-hydroxyvitamin D3 1 -hydroxylase gene product in pseudovitamin D deficiency rickets, including that with mild clinical manifestation. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:4111–4117.
198. Petje G, Meizer R, Radler C, Aigner N, Grill F Deformity correction in children with hereditary hypophosphatemic rickets. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466:3078–3085
199. Mielke CH, Stevens PM. Hemiepiphyseal stapling for knee deformities in children younger than 10 years: a preliminary report. *J Pediatr Orthop.* 1996 Jul-Aug; 16(4):423-9.
200. Novais E, Stevens PM. Hypophosphatemic rickets: the role of hemiepiphysiodesis. *J Pediatr Orthop.* 2006 Mar-Apr; 26(2):238-44.

Приложение 1

Таблица 11. Гены и наследственные формы рахита

Ген	ОМIM	Название заболевания	Ведущие признаки	Тип наследования
<i>CYP27B1</i>	609506	Витамин-Д-зависимый рахит 1А типа	рахит, гипокальциемия, гипофосфатемия, судороги, гипоплазия эмали, выпадение зубов	Аутосомно-рецессивный (АР)
<i>CYP2R1</i> <i>CYP27A1</i>	608713 606530	Витамин-Д-зависимый рахит 1В типа	рахит, гипокальциемия, гипофосфатемия, судороги, гипоплазия эмали, выпадение зубов	Аутосомно-рецессивный (АР)
<i>VDR</i>	601769	Витамин-Д-зависимый рахит 2А типа	рахит, гипокальциемия, гипофосфатемия, судороги, алоpecia, резистентность к 1,25(OH) ₂ D ₃ , гипоплазия эмали	Аутосомно-рецессивный (АР)
<i>PHEX</i>	307800	Х-сцепленный доминантный гипофосфатемический рахит	рахит, гипофосфатемия, гиперфосфатурия, нормокальциемия, высокий FGF23, кариес, абсцессы зубов	Х-сцепленный доминантный
<i>FGF23</i>	193100 211900	Аутосомно-доминантный гипофосфатемический рахит	рахит, гипофосфатемия, гиперфосфатурия, нормокальциемия, высокий FGF23, кариес	Аутосомно-доминантный (АД)
<i>DMP1</i>	241520	Аутосомно-рецессивный гипофосфатемический рахит 1 типа	рахит, гипофосфатемия, гиперфосфатурия, нормокальциемия	АР
<i>ENPP1</i>	173335	Аутосомно-рецессивный гипофосфатемический рахит 2 типа	рахит, гипофосфатемия, гиперфосфатурия, нормокальциемия	АР
<i>SLC34A1</i> (NaPi-IIa)	612286 613388	Гипофосфатемический рахит/нефролитиаз/остеопороз – 1 типа Ренотубулярный синдром Фанкони	гипофосфатемия, нефрокальциноз, остеопороз, синдром Фанкони	АД АР
<i>SLC34A3</i> (NaPi-IIc)	241530	Наследственный рецессивный гипофосфатемический	рахит, гипофосфатемия, гиперфосфатурия,	АР

		рахит	гиперкальциурия, высокий $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, низкий FGF23	
<i>SLC9A3R1</i>	612287	Гипофосфатемический рахит/нефролитиаз/ остеопороз – 2 типа	гипофосфатемия, гиперфосфатурия, низконормальный ПТГ, незначительный подъем $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, нефрокальциноз	АД
<i>Klotho</i>	211900	Гипофосфатемический рахит с гиперпаратиреозом Семейный опухолевый кальциноз	гипофосфатемия, гиперфосфатурия, высокий FGF23, высокий ПТГ гиперфосфатемия, гиперкальциемия, гетеротопическая кальцификация, высокий интактный, FGF23	АР транслокация АД
<i>FAM20C</i>	259775	Синдром Рейна Остеосклеротическая костная дисплазия	низкая плотность костной ткани, периостальное утолщение костей, деформация скуловых костей, выпадение зубов	АР
<i>FGFR1</i>	166250	Остеоглофोरическая дисплазия	гипофосфатемия гиперфосфатурия кранистеноз	АД?
<i>ALPL</i>	17176	Гипофосфатазия	рахит, костные шпоры, кранистеноз, мышечная гипотония, раннее выпадение зубов, деминеализация костей витаминов-В6-зависимые судороги, низкий уровень ЩФ высокий уровень ФЭА в моче	АР АД
<i>CLCN5</i>	300008	Синдром Дента	почечная недостаточность, нефрокальциноз, гиперкальциурия, протеинурия (бета-2- глобулинурия), гипофосфатемия, гиперфосфатурия	Х-сцепленный рецессивный

Приложение 2. Рисунок 16 Алгоритм ведения пациентов с наследственными формами рахита

