

## ПЕДИАТРИЯ

УДК 616.71-007.17-053.2:575.113

### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАХИТОПОДОБНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ

Ахмедова Д.И., Абидова М.Д.

Ташкентский государственный медицинский университет

#### ХУЛОСА

**Тадқиқот мақсади:** Болаларда рахитга ўхиши касалликларнинг молекуляр-генетик ва клиник-лаборатор хусусиятларини аниqlаши.

**Тадқиқот материали ва усулари.** 2023-2025 ийларда Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлиги Миллий болалар тиббиёт марказида 148 нафар болага (рахитга ўхиши касалликлари бўлган 103 бемор ва назорат гурӯҳидаги 45 нафар соғлом бола) комплекс текширив ўтиказилди. Янги авлод генетик секвенслиши (NGS), полимераза занжир реакцияси (ПЗР), биокимёвий, иммуноферментли ва гормонал тадқиқот усуслари қўлланилди.

**Натижалар.** Тадқиқот натижаларига кўра рахитга ўхиши касалликлари бўлган болаларда PHEX (36,9% ҳолатларда), CYP27B1 (21,4%), VDR (14,6%), SLC34A3 (12,6%), CLCN5 (8,7%), ALPL (2,9%) генларида мутациялар аниqlанди. Шу билан бирга илгари тасвирланмаган 7 та патоген вариант аниqlанди, бу рахитга ўхиши касалликларнинг мутацион спектри ҳақидаги тасаввурларни кенгайтиради. Генотип ва касалликларнинг фенотипик кўринишлари ўтасидаги корреляциялар аниqlанди. Энг кўп учрайдиган шакли PHEX генидаги мутациялар билан боғлиқ гипофосфатемик рахит бўлди. Шунингдек, аниqlangan рахитга ўхиши касалликларда минерал алмасиниуви бузилишининг биокимёвий маркерлари, D витамини, ПТГ ва фибробластлар ўсиши омили FGF23 кўрсаткичлари аниqlанди.

**Хулоса.** олинган натижалар болалар эндокринологияси ва нефрологияси соҳасида шахсийлаштирилган тиббиётни ривожлантириши учун муҳим аҳамиятга эга бўлиб, эрта диагностика, оиласаларга генетик маслаҳат берииш ва рахитга ўхиши касалликлари бўлган ҳар бир bemor учун оптималь терапевтик ёндашувларни танлашини таъминлайди.

**Калим сўзлар:** рахитга ўхиши касалликлар, молекуляр генетика, болалар, гипофосфатемик рахит, D витаминига боғлиқ рахит, тубулопатиялар.

#### АКТУАЛЬНОСТЬ

Рахитоподобные заболевания представляют собой гетерогенную группу наследственных нарушений минерального обмена, характеризующихся де-

#### SUMMARY

**Objective.** To determine the molecular-genetic and clinical-laboratory characteristics of rickets-like diseases in children.

**Material and methods.** A comprehensive examination of 148 children (103 patients with rickets-like diseases and 45 healthy children in the control group) was conducted at the National Children's Medical Center of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan during 2023-2025. Methods of next-generation genetic sequencing (NGS), polymerase chain reaction (PCR), biochemical, enzyme-linked immunosorbent assay, and hormonal studies were applied.

**Results.** According to the study results, mutations in the PHEX (36.9% of cases), CYP27B1 (21.4%), VDR (14.6%), SLC34A3 (12.6%), CLCN5 (8.7%), ALPL (2.9%) genes were identified in children with rickets-like diseases. Seven previously undescribed pathogenic variants were identified, expanding the understanding of the mutational spectrum of rickets-like diseases. Correlations between genotype and phenotypic manifestations of diseases were established. The most common form was hypophosphatemic rickets associated with mutations in the PHEX gene. Indicators of biochemical markers of mineral metabolism disorders, vitamin D levels, PTH, and fibroblast growth factor FGF23 in identified rickets-like diseases were also determined.

**Conclusion.** The obtained results are of great importance for the development of personalized medicine in pediatric endocrinology and nephrology, enabling early diagnosis, genetic counseling for families, and selection of optimal therapeutic approaches for each patient with rickets-like diseases.

**Keywords:** rickets-like diseases, molecular genetics, children, hypophosphatemic rickets, vitamin D-dependent rickets, tubulopathies.

фектами костной минерализации, деформациями скелета и задержкой роста. В отличие от классического алиментарного рахита, эти заболевания обусловлены генетическими дефектами в различных звеньях мета-

болизма витамина D, фосфатов или функции почечных канальцев [1, 6, 7].

Распространенность рахитоподобных заболеваний в мире составляет от 1:20000 до 1:60000 новорожденных, однако из-за недостаточной диагностики истинная частота может быть выше. Наиболее распространенной формой является X-сцепленный гипофосфатемический рахит, встречающийся с частотой 1:20000-1:25000 [2, 9].

Молекулярно-генетические исследования последних десятилетий значительно расширили понимание патогенеза рахитоподобных заболеваний. К настоящему времени идентифицировано более 20 генов, мутации в которых приводят к развитию различных форм наследственного рахита. Основными генами-кандидатами являются PHEX, FGF23, DMP1, ENPP1 (гипофосфатемические формы), CYP27B1, CYP24A1, VDR (витамин D-зависимые формы), SLC34A1, SLC34A3, SLC9A3R1 (почечные тубулопатии) [8, 11].

Своевременная и точная диагностика рахитоподобных заболеваний имеет критическое значение для выбора адекватной терапии и предотвращения необратимых осложнений. Традиционные методы диагностики, основанные на клинических и биохимических критериях, часто недостаточны для дифференциальной диагностики различных форм заболевания. Внедрение современных молекулярно-генетических методов исследования открывает новые возможности для персонализированного подхода к диагностике и лечению.

Особую актуальность представляет изучение генетических особенностей рахитоподобных заболеваний в различных этнических популяциях, поскольку спектр и частота мутаций могут существенно различаться. Данные о молекулярно-генетических характеристиках этих заболеваний в популяции Центральной Азии крайне ограничены, что определяет необходимость проведения специализированных исследований [11, 12].

#### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение молекулярно-генетических особенностей и клинико-лабораторных характеристик рахитоподобных заболеваний у детей.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование было проведено на базе Национального детского медицинского центра Министерства здравоохранения Республики Узбекистан в период с 2023 по 2025 годы. Исследование выполнялось в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013) и было одобрено локальным этическим комитетом учреждения. Все родители и официальные опекуны детей дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

В исследование было включено 148 детей, которые были разделены на две группы: основная группа - 103 ребенка с рахитоподобными заболеваниями и

контрольная группа, которую составили 45 практически здоровых детей того же возрастного диапазона

#### Критерии включения в основную группу:

- возраст детей от 6 месяцев до 18 лет;
- клинические признаки рахитоподобного заболевания;
- положительные биохимические маркеры нарушения минерального обмена;
- рентгенологические признаки рахитоподобных изменений скелета
- отсутствие эффекта от стандартной терапии витамином D

#### Критерии исключения:

- классический алиментарный рахит;
- вторичные формы рахита при хронических заболеваниях;
- отказ родителей от участия в исследовании.

Всем пациентам проводилось комплексное обследование, включавшее:

1. Клиническое обследование: оценка физического развития, выявление деформаций скелета, мышечной слабости, зубных аномалий.

2. Биохимическое исследование крови: определение общего и ионизированного кальция, неорганического фосфора, щелочной фосфатазы.

3. Гормональное исследование: определение паратиреоидного гормона (ПТГ)

4. Иммуноферментное исследование: определение 25(OH)D<sub>3</sub> и 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, фактора роста фибробластов 23 (FGF23)

5. Биохимическое исследование мочи: определение кальция, фосфора, креатинина, аминокислот (при подозрении на синдром Фанкони) и pH мочи

6. ДНК-исследование: геномная ДНК выделялась из лейкоцитов периферической крови с использованием коммерческих наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия).

7. Секвенирование нового поколения (NGS): использовалась панель генов, включающая основные гены, ассоциированные с рахитоподобными заболеваниями: - данные секвенирования: PHEX, FGF23, DMP1, ENPP1, SLC34A3 (гипофосфатемические формы); CYP27B1, CYP24A1, VDR (витамин D-зависимые формы), SLC34A1, SLC9A3R1, ATP6V1B1, ATP6V0A4, SLC4A1, CLCN5 (тубулопатии), ALPL (гипофосфатазия);

8. ПЦР и секвенирование по Сэнгеру: для подтверждения выявленных вариантов и семейного анализа;

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы SPSS 26.0. Проводился биоинформационный анализ базы данных gnomAD, ClinVar, HGMD для оценки патогенности выявленных вариантов. Применялись программы предсказания патогенности SIFT, PolyPhen-2, MutationTaster. Применялись методы описательной статистики, критерий  $\chi^2$ , критерий Манна-Уитни, корреляционный анализ Спирмена. Различия считались статистически

значимыми при  $p < 0,05$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст пациентов составил  $8,4 \pm 4,2$  года. Соотношение мальчиков и девочек было 1,3:1

(58 мальчиков и 45 девочек).

В результате проведенных исследований в структуре рахитоподобных заболеваний были выделены нозологические формы, представленные в таб. 1.

**Распределение пациентов основной группы по нозологическим формам**

Нозологическая форма	Количество пациентов	Процент от общего числа
Гипофосфатемический рахит	38	36,9%
Витамин D-зависимый рахит 1 типа	22	21,4%
Витамин D-зависимый рахит 2 типа	15	14,6%
Почечные тубулопатии	18	17,5%
Синдром Фанкони	7	6,8%
Гипофосфатазия	3	2,9%
Всего	103	100%

Молекулярно-генетическое исследование позволило установить точный диагноз у 91,3% пациентов с клиническими признаками рахитоподобных заболеваний. В 8,7% случаев (9 пациентов) патогенные варианты не были выявлены, что может указывать

на наличие мутаций в других генах или структурных перестроек, не детектируемых используемыми методами. Спектр патогенных вариантов представлен в таб.2.

**Спектр выявленных генетических вариантов**

Ген	Количество пациентов	Тип наследования	Основные типы мутаций
PHEX	38	X-цепленный	Миссенс (52,6%), нонсенс (26,3%), делеции (21,1%)
CYP27B1	22	Аутосомно-рецессивный	Миссенс (68,2%), сплайсинг (31,8%)
VDR	15	Аутосомно-рецессивный	Миссенс (80%), нонсенс (20%)
SLC34A3	13	Аутосомно-рецессивный	Миссенс (61,5%), делеции (38,5%)
CLCN5	9	X-цепленный	Миссенс (66,7%), делеции (33,3%)
ALPL	3	Аутосомно-рецессивный	Миссенс (100%)
SLC34A1	2	Аутосомно-домinantный	Миссенс (100%)
Другие	3	Различный	-

В структуре генетических вариантов лидирующую позицию занимает гипофосфатемический рахит (мутации в гене PHEX), который выявлен у 36,9% от всех пациентов с патогенными вариантами рахитоподобными заболеваниями. Все пациенты с данным вариантом имели выраженную гипофосфатемию ( $0,65 \pm 0,12$  ммоль/л при норме 1,0-1,8 ммоль/л), повышенный уровень FGF23 ( $184,3 \pm 67,2$  пг/мл при норме  $< 30$  пг/мл). Деформации нижних конечностей наблю-

дались у 89,5% пациентов, низкорослость - у 78,9%.

В ходе исследования было выявлено 7 ранее не описанных вариантов: 3 варианта - в гене PHEX, 2 варианта - в гене CYP27B1, 1 вариант - в гене VDR и 1 вариант - в гене SLC34A3

Все данные варианты были классифицированы как вероятно патогенные на основании биоинформационного анализа и сегрегационного анализа в семьях.

**Таблица 3**

**Новые генетические варианты, выявленные в исследовании**

Ген	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена	Тип мутации	Количество семей
PHEX	c.1456G>A	p.Gly486Ser	Миссенс	2
PHEX	c.2134delC	p.Pro712Leufs*23	Делеция	1
PHEX	c.1789T>G	p.Cys597Gly	Миссенс	1
CYP27B1	c.1198C>T	p.Arg400Cys	Миссенс	1
CYP27B1	c.845+2T>C	-	Сплайсинг	1
VDR	c.1156A>G	p.Thr386Ala	Миссенс	1
SLC34A3	c.1567G>A	p.Glu523Lys	Миссенс	1

Результаты биохимических исследований у детей с выявленными формами рахитоподобных заболеваний свидетельствовали о нарушении минерального обмена, показателей витамина D, ПТГ и

фактора роста фибробластов FGF23. Так, для всех форм характерно уменьшение уровня фосфора и повышение уровня ШФ (таб.4); у пациентов с витамин D- зависимым рахитом 1 и 2 типа (мутации гена VDR

и CYP27B1) отмечается низкий уровень кальция (соответственно -  $1,89 \pm 0,31$  и  $1,92 \pm 0,28$  ммоль/л,  $p < 0,05$ ). Повышение уровня ПТГ характерно для пациентов с витамин D-зависимым рахитом 2 типа CYP27B1 и SLC34A3. Повышение фактора роста фибробластов FGF23 было выявлено у пациентов с гипофосфатемическим рахитом (мутация гена PHEX,  $184,3 \pm 67,2$  пг/мл,  $p < 0,05$ ) и у детей с гипофосфатемией и гиперкальциурией (мутация гена SLC34A3,  $156,7 \pm 52,4$  пг/мл,  $p < 0,05$ ).

Витамин D-зависимый рахит 1 типа (мутации в гене CYP27B1) характеризовался выраженной гипокальциемией ( $1,89 \pm 0,31$  ммоль/л), вторичным гиперпаратиреозом (ПТГ  $156,7 \pm 45,2$  пг/мл) и низким уровнем активного метаболита витамина D ( $18,9 \pm 6,7$  пг/мл). Витамин D-зависимый рахит 2 типа (мутации в гене VDR) отличался резистентностью к терапии активными метаболитами витамина D. У 80% пациентов наблюдалась алопеция различной степени выраженности.

Таблица 4

**Биохимические показатели у пациентов с различными формами рахитоподобных заболеваний**

Показатель	PHEX Фосфат-регулирующая эндолептидаза, сцепленная с X-хромосомой (n=38)	CYP27B1 Цитохром P450, семейство 27, подсемейство B, член 1 (n=22)	VDR Рецептор витамина D (n=15)	SLC34A3 Переносящий растворенные вещества, семейство 34, член 3 (n=13)	Контроль (n=45)
Кальций общий, ммоль/л	$2,18 \pm 0,23$	$1,89 \pm 0,31^*$	$1,92 \pm 0,28^*$	$2,31 \pm 0,19$	$2,45 \pm 0,15$
Фосфор, ммоль/л	$0,65 \pm 0,12^*$	$0,78 \pm 0,19^*$	$0,71 \pm 0,16^*$	$0,69 \pm 0,14^*$	$1,35 \pm 0,21$
ЩФ, Ед/л	$456 \pm 123^*$	$523 \pm 156^*$	$498 \pm 134^*$	$389 \pm 98^*$	$187 \pm 45$
ПТГ, пг/мл	$78,4 \pm 23,1$	$156,7 \pm 45,2^*$	$42,3 \pm 38,9^*$	$89,2 \pm 27,6$	$35,2 \pm 12,4$
$25(\text{OH})\text{D}_3$ , нг/мл	$28,4 \pm 8,7$	$31,2 \pm 9,4$	$29,8 \pm 7,6$	$26,7 \pm 8,1$	$32,1 \pm 9,2$
$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , пг/мл	$45,3 \pm 12,8$	$18,9 \pm 6,7^*$	$52,4 \pm 15,3$	$41,2 \pm 11,9$	$48,7 \pm 13,2$
FGF23, пг/мл	$184,3 \pm 67,2^*$	$45,2 \pm 18,7$	$41,8 \pm 16,3$	$156,7 \pm 52,4^*$	$22,4 \pm 8,1$

\* $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой

Таким образом, биохимические маркеры демонстрируют специфические паттерны для различных генетических форм: выраженная гипофосфатемия и повышение FGF23 при мутациях в гене PHEX, гипокальциемия и вторичный гиперпаратиреоз при дефектах CYP27B1, резистентность к терапии активными метаболитами витамина D при мутациях в гене VDR.

Наряду со специальными методами исследования, проведен анализ клинико-анамнестических данных. Так, семейный анализ был проведен в 78 семьях (75,7% от общего числа). Выявлено, что при X-сцепленных формах (PHEX, CLCN5) в 67,4% случаев мутация была унаследована от матери-носительницы; при аутосомно-рецессивных формах родители были гетерозиготными носителями в 89,1% случаев; De novo мутации составили 12,8% от всех выявленных вариантов.

Результаты свидетельствуют, что семейный анализ подтверждает mendелевский характер наследования рахитоподобных заболеваний с преобладанием аутосомно-рецессивного (54,4%) и X-сцепленного (34,9%) типов наследования, при этом частота de novo мутаций составляет 12,8%.

В ходе исследований нами установлены следующие корреляции между типом мутации и тяжестью клинических проявлений:

**Ген PHEX:**

- Нонсенс-мутации и крупные делеции ассоциировались с более тяжелым течением заболевания
- Миссенс-мутации в функционально важных доменах приводили к умеренно тяжелому фенотипу

- Мутации в C-концевой части белка характеризовались более мягким течением

**Ген CYP27B1:**

- Мутации, приводящие к полной потере функции фермента, ассоциировались с ранним началом и тяжелым течением
- Миссенс-мутации с частичной потерей активности характеризовались более поздним началом симптомов.

Таким образом, установлены четкие генотип-фенотип корреляции: нонсенс-мутации и крупные делеции ассоциируются с более тяжелым течением заболевания, в то время как миссенс-мутации характеризуются вариабельностью клинических проявлений в зависимости от локализации в функционально важных доменах белка.

Для выявления значимости каждого метода диагностики рахитоподобных заболеваний определены чувствительность, специфичность и точность каждого из них.

Как видно из таб.5, наиболее эффективным является комплексный подход, включающий как видно по полученным результатам все необходимые методы, но при этом среди них необходимо отметить генетическое тестирование. Молекулярно-генетическое исследование является высокоеффективным методом диагностики рахитоподобных заболеваний с чувствительностью 91,3% и специфичностью 95,6%, что значительно превышает эффективность традиционных диагностических подходов

Таблица 5

## Сравнение диагностической эффективности различных методов

Метод диагностики	Чувствительность,%	Специфичность,%	Точность, %
Клинические критерии	78,6	65,4	73,2
Биохимические маркеры	85,4	78,9	82,8
Рентгенологические признаки	82,1	71,2	78,4
Генетическое тестирование	91,3	95,6	92,8
Комплексный подход	96,1	97,8	96,6

## ВЫВОДЫ

Таким образом, на основании молекулярно-генетического секвенирования у детей с рахитоподобными заболеваниями выявлен широкий спектр генетических вариантов, включающий мутации в 7 основных генах - PHEX (36,9% случаев), CYP27B1 (21,4%), VDR (14,6%), SLC34A3 (12,6%), CLCN5 (8,7%), ALPL (2,9%) и SLC34A1 (1,9%). При этом выявлены 7 ранее не описанных патогенных вариантов, что расширяет представления о мутационном спектре рахитоподобных заболеваний. Установлены корреляции между генотипом и фенотипическими проявлениями заболеваний. Наиболее частой формой был гипофосфатемический рахит, связанный с мутациями в гене PHEX.

Полученные результаты имеют важное значение для развития персонализированной медицины в области детской эндокринологии и нефрологии, позволяя обеспечить раннюю диагностику, генетическое консультирование семей и выбор оптимальных терапевтических подходов для каждого пациента с рахитоподобными заболеваниями

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

## ЛИТЕРАТУРА

- Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, et al. Skeletal and extra-skeletal actions of vitamin D: current evidence and outstanding questions. Endocr Rev. 2023;44(4):677-702.
- Braegger C, Campoy C, Colomb V, et al. Vitamin D in the healthy European paediatric population. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2020;71(4):528-42.
- Cashman KD, Ritz C, Kiely M, et al. Improved dietary guidelines for vitamin D: application of individual participant data (IPD)-level meta-regression analyses. Nutrients. 2021;13(4):1129.
- Creo AL, Thacher TD, Pettifor JM, et al. Nutritional rickets around the world: an update. Paediatr Int Child Health. 2021;41(2):84-98.
- Elder CJ, Bishop NJ. Rickets and osteomalacia. Medicine. 2023;51(12):789-95.
- Lerch C, Meissner T. Interventions for the prevention of nutritional rickets in term born children. Cochrane Database Syst Rev. 2022;12:CD006164.
- Munns CF, Shaw N, Kiely M, et al. Global consensus recommendations on prevention and management of nutritional rickets. J Clin Endocrinol Metab. 2020;105(12):4266-83.
- Pludowski P, Takacs I, Boyanov M, et al. Vitamin D supplementation guidelines for general population and groups at risk of vitamin D deficiency in Europe. Nutrients. 2022;14(4):693.
- Sahay M, Sahay R. Rickets-vitamin D deficiency and dependency. Indian J Endocrinol Metab. 2022;26(3):278-87.
- Thacher TD, Pludowski P. Vitamin D deficiency rickets: Recent advances in diagnosis and management. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2024;31(1):45-52.
- Thandrayen K, Pettifor JM. The roles of vitamin D and dietary calcium in nutritional rickets. Bone Rep. 2021;15:101115.
- Uday S, Höglér W. Prevention of rickets and osteomalacia in the UK: political action overdue. Arch Dis Child. 2021;106(1):2-7.