

Опыт применения полногеномного секвенирования для диагностики X-сцепленного гипофосфатемического рахита на примере двух случаев

А.А. Буянова, А.В. Рожкова, О.П. Паршина, А.А. Кудакаева, Е.В. Васильев, И.С. Данцев, Е.А. Николаева

Научно-исследовательский клинический институт педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 125412, Москва, Российская Федерация

Experience of using whole genome sequencing for diagnostics of X-linked hypophosphatemic rickets on the example of two cases

А.А. Buianova, А.В. Rozhkova, О.П. Parshina, А.А. Kudakaeva, Е.В. Vasilyev, И.С. Dantsev, Е.А. Nikolaeva

Veltischev Research and Clinical Institute for pediatrics and pediatric surgery at the Pirogov Russian National Research Medical University, 125412, Moscow, Russian Federation

Х-сцепленный доминантный гипофосфатемический рахит — наиболее распространенная наследственная форма гипофосфатемического рахита, которая характеризуется нарушением функции почек, деформацией скелета и другими полиорганными осложнениями. В нашей стране с 2022 года одобрен к терапевтическому применению первый патогенетический препарат на основе моноклональных антител к фактору роста фибробластов 23 — Бурсумаб. Назначение терапии требует верификации диагноза при помощи молекулярно-генетических методов. В настоящем исследовании представлены два клинических наблюдения за пациентами с Х-сцепленным доминантным гипофосфатемическим рахитом. Клинический диагноз был установлен в возрасте 7 и 12 лет на основании характерного биохимического профиля и рентгенологической картины. Однако каузативные варианты в гене *PHEX* (с.2147+1197A>G и chrX:22030553_22033026del) удалось выявить только после проведения полногеномного секвенирования с последующим детальным анализом данных секвенирования нового поколения.

Ключевые слова: Х-сцепленный доминантный гипофосфатемический рахит, полногеномное секвенирование, бурсумаб.

Для цитирования: Буянова А.А., Рожкова А.В., Паршина О.П., Кудакаева А.А., Васильев Е.В., Данцев И.С., Николаева Е.А. Опыт применения полногеномного секвенирования для диагностики Х-сцепленного гипофосфатемического рахита на примере двух случаев. *Ros vestn perinatol i pediatr* 2025; 70:(6): 95–103. DOI: 10.21508/1027-4065-2025-70-6-95-103

X-linked dominant hypophosphatemic rickets is the most common inherited form of hypophosphatemic rickets, characterized by renal dysfunction, skeletal deformities, and other multi-organ complications. In Russia, since 2022, the first targeted therapy has been approved for clinical use — Burosumab, a monoclonal antibody directed against fibroblast growth factor 23. Initiation of treatment requires confirmation of the diagnosis through molecular genetic testing. This study presents two clinical case reports of patients with X-linked dominant hypophosphatemic rickets. The clinical diagnosis was established at the ages of 7 and 12 years based on a characteristic biochemical profile and radiographic findings. However, causative variants in the *PHEX* gene (c.2147+1197A>G and chrX:22030553_22033026del) were identified only after whole-genome sequencing, followed by detailed analysis of next-generation sequencing data.

Key words: X-linked dominant hypophosphatemic rickets, whole genome sequencing, burosomab.

For citation: Buianova A.A., Rozhkova A.V., Parshina O.P., Kudakaeva A.A., Vasilyev E.V., Dantsev I.S., Nikolaeva E.A. Experience of using whole genome sequencing for diagnostics of X-linked hypophosphatemic rickets on the example of two cases. *Ros Vestn Perinatol i Pediatr* 2025; 70:(6): 95–103 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2025-70-6-95-103

Гипофосфатемический рахит — гетерогенная группа наследственных заболеваний, которые характеризуются развитием рахитоподобных измене-

ний костной ткани вследствие повышенного выведения фосфора из организма. В данную категорию входит около 10 нозологических форм, которые раз-

© Коллектив авторов, 2025

Адрес для корреспонденции: Буянова Анастасия Александровна (автор, ответственный за переписку) — м.н.с. лаборатории клинической геномики и биоинформатики Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID 0000-0001-7894-9222

E-mail: anastasiabuianova97@gmail.com

Рожкова Анастасия Вячеславовна — ординатор 2 года Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID 0009-0006-7876-1223

Паршина Ольга Павловна — ординатор 2 года Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID 0009-0007-5460-4984

Кудакаева Алия Анваровна — врач-генетик, м.н.с. лаборатории клинической геномики и биоинформатики Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии имени академика

Ю.Е. Вельтищева, ORCID 0009-0008-5168-535X

Васильев Евгений Витальевич — к.б.н., врач лабораторный генетик, с.н.с. лаборатории клинической геномики и биоинформатики, зав. лабораторией молекулярной и биохимической диагностики Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID 0000-0003-1107-362X

Данцев Илья Сергеевич — врач-генетик, зав. лабораторией клинической геномики и биоинформатики Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID 0000-0002-4024-5171

Николаева Екатерина Александровна — д.м.н., врач-генетик, гл.н.с. отдела клинической генетики Научно-исследовательского клинического института педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева, ORCID 0000-0001-7146-7220

125412, г. Москва, ул. Талдомская, д. 2

личаются по типу наследования, молекулярным механизмам и выраженности клинических проявлений [1].

Х-сцепленный доминантный гипофосфатемический ракит (OMIM #307800) — наиболее частая наследственная форма гипофосфатемического ракита, ассоциированная с патогенными вариантами в гене *PHEX*. Распространенность заболевания оценивается как 3–9,5 случаев на 100 000 человек, без существенных различий между популяциями. Характер географического распределения заболеваемости в большей степени связывают с качеством и доступностью диагностики в различных регионах, чем с этническими или генетическими особенностями отдельных популяций [2]. Согласно данным Федеральной службы государственной статистики, в России ежегодно регистрируется около 60 новых случаев Х-сцепленного доминантного гипофосфатемического ракита, а всего в нашей стране данное заболевание имеют порядка 6000–7000 человек [3].

Ген *PHEX* расположен на коротком плече хромосомы X, Xp22.1-p22.2, состоит из 22 экзонов и кодирует цинк-зависимую металлоэндопептидазу [4]. Белок, кодируемый этим геном, регулирует экспрессию фактора роста фибробластов 23 и синтезируется преимущественно в остеобластах и одонтобластах [5]. В свою очередь, фактор роста фибробластов 23 играет ключевую роль в поддержании фосфатного гомеостаза путем снижения реабсорбции фосфатов в проксимальных канальцах нефрона. Помимо своего фосфатурического эффекта, фактор роста фибробластов 23 ингибирует 25-ОН витамин D1-альфа-гидроксилазу (CYP27B1) и активирует 25-ОН витамин D24-гидроксилазу (CYP24A1), что приводит к снижению 1,25(OH)₂D и повышению уровня 24,25(OH)₂D в крови. В ответ на подобные изменения происходит снижение всасывания фосфатов в кишечнике. Каузативные варианты в *PHEX* приводят к увеличению синтеза фактора роста фибробластов 23, повышению его уровня в сыворотке крови с развитием тяжелых системных проявлений Х-сцепленного доминантного гипофосфатемического ракита.

У пациентов с Х-сцепленным доминантным гипофосфатемическим ракитом наблюдаются: задержка роста, несоответствие массы тела его длине, варусная деформация коленных и/или тазобедренных суставов, бедренных и большеберцовых костей. Деформация нижних конечностей возникает в процессе вертикализации ребенка и становится заметной с началом ходьбы. Также достаточно характерны: краниосиндроз, аномальное строение черепа, зубо-челюстные абсцессы [6].

Для предупреждения инвалидизации пациента с Х-сцепленным доминантным гипофосфатемическим ракитом ключевое значение имеют ранняя постановка диагноза и выбор адекватной тактики лечения. До недавнего времени терапия заболевания включала пероральный прием неорганических

фосфатов (20–60 мг/кг/сут) в сочетании с активными метаболитами витамина D (альфакальцидол 1 мкг/сут или кальцитриол 0,5 мкг/сут). Однако у значительного числа пациентов положительный результат отсутствовал, а в некоторых случаях сообщалось о таких осложнениях, как нефропатия и гиперпаратиреоз [7, 8].

В 2018 году Food and Drug Administration (FDA) одобрила патогенетический препарат Бурсумаб — человеческое моноклональное антитело, разработанное специально для лечения Х-сцепленного доминантного гипофосфатемического ракита. Он связывает фактор роста фибробластов 23, тем самым восстанавливая нормальный гомеостаз фосфатов. Бурсумаб значительно улучшает прогноз заболевания и превосходит по своей эффективности стандартные методы лечения. Пациенты, которые получали препарат, имеют нормальный рост, им реже требуются хирургические вмешательства, не так часто встречаются такие осложнения, как нефропатия, и менее выражен болевой синдром в нижних конечностях, повышается толерантность к длительным физическим нагрузкам [9, 10]. На настоящий момент это единственный метод лечения, который позволяет многим пациентам достигнуть практически полного контроля над заболеванием.

В нашей стране Бурсумаб входит в перечень препаратов, закупаемых Фондом «Круг добра». Патогенетическая терапия назначается детям с клиническим диагнозом Х-сцепленного доминантного гипофосфатемического ракита, подтвержденным молекулярно-генетическими методами, то есть выявлением каузативных вариантов в гене *PHEX*. Исследование может быть проведено с использованием секвенирования по Сэнгеру или таргетного высокопроизводительного секвенирования (NGS), однако важно учитывать, что при этом протяженные гетерозиготные делеции и дупликации (Copy number variation — CNV) могут не детектироваться. В таких случаях рекомендуется проведение анализа гена *PHEX* с использованием мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA — Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) или хромосомного микроматричного анализа (XMA) экзонного уровня. При подозрении на патогенные варианты в интронных областях оправдано применение полногеномного секвенирования (WGS), которое также позволяет выявлять CNV [11]. При этом у пациентов мужского пола, в связи с гемизиготным состоянием по X-хромосоме, протяженные делеции в гене *PHEX*, как правило, легко идентифицируются при NGS, включая полногеномное секвенирование, не требуя дополнительной валидации методами MLPA или хромосомного микроматричного анализа. К редким причинам Х-сцепленного доминантного гипофосфатемического ракита относятся постзиготные каузативные варианты в гене *PHEX*, которые могут быть детектированы с помощью таргетного высокопроизводительного секвенирования (targeted sequencing).

производительного секвенирования с большой глубиной покрытия.

С целью демонстрации диагностической значимости полногеномного секвенирования для выявления редких нуклеотидных вариантов и CNV в гене *PHEX* представлены клинические наблюдения двух пробандов из неродственных семей, а также описание их клинических, биохимических и рентгенологических особенностей.

Клинические наблюдения

Настоящая работа включает описание двух клинических случаев: пробанд С., мальчик 7 лет и пробанд В., мальчик 12 лет, у которых на основании клинико-лабораторных и рентгенологических данных был установлен диагноз X-сцепленного доминантного гипофосфатемического рахита.

Клинико-генеалогический метод использовался для установления наследственного характера заболевания. Составление родословной включало не менее трех поколений. Клиническая оценка каждого из представленных случаев включала осмотр, сбор жалоб и анамнеза, учитывались параметры физического развития, дебют заболевания, динамика прогрессирования и выраженности патологии опорно-двигательного аппарата, внескелетные проявления заболевания. Оценка физического развития (SDS роста и SDS веса) производилась с использованием антропометрического калькулятора специальной электронной программы (Auxology). Оценивались результаты, полученные при исследовании клинического и биохимического анализов крови (кальций общий, фосфор, щелочная фосфатаза, креатинин, 25(OH)-витамин D, паратиреоидный гормон), биохимический анализ мочи (кальций, фосфор в разовой порции мочи), мКРФ/СКФ — отношение максимальной канальцевой реабсорбции фосфатов к скорости клубочковой фильтрации и СКФ — скорости клубочковой фильтрации. Инstrumentальные методы исследования включали ультразвуковое исследование органов брюшной полости и почек, щитовидной железы, а также рентгенографию, проводимую с целью подтверждения диагноза и определения степени тяжести рахитических изменений.

Молекулярно-генетические методы. Полногеномное секвенирование выполнено методом парно-концевого чтения 2x150 на платформе MGI DNBseq-T7. Данные в формате fastq были предоставлены родителями пробанда в лабораторию клинической геномики и биоинформатики НИКИ педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева для повторного анализа. Для удаления последовательностей адаптеров использовали утилиту cutadapt [12]. Выравнивание прочтений ДНК на референсный геном человека hg38/GRCh38 проводили с использованием алгоритма BWA-MEM v0.7.18; мечение дубликатов — утилитой samblaster v0.1.26; дополнительные манипу-

ляции с bam- и vcf-файлами выполняли с помощью наборов инструментов Picard v3.2.0, SAMtools v1.21 и BCFtools v1.21 [13–16]. Для выявления одноклеточных вариантов и коротких делеций/инсерций применяли алгоритм Genome Analysis Toolkit (GATK) HaplotypeCaller v4.6.0 согласно рекомендациям разработчиков [17, 18]. Аннотацию выявленных вариантов проводили с помощью программы VEP (Variant Effect Predictor) [19]. Определение вариации числа копий CNV проводили с использованием приложения Canvas v1.40; анализ структурных перестроек генома проводили с помощью алгоритма поиска дискордантных и гибридных прочтений Manta [20, 21]. Для визуализации результатов использовали браузер IGV (Integrative Genomics Viewer) [22].

Клинический случай № 1

Пробанд С., мальчик 7 лет, наблюдался в педиатрическом отделении врожденных и наследственных заболеваний Института Вельтищева с жалобами на задержку роста, быструю утомляемость при физических нагрузках, варусную деформацию нижних конечностей, преждевременное выпадение зубов. Генеалогический анамнез не отягощен, в семье есть здоровые старшие сестра и брат, родители здоровы.

Анамнез жизни. Ребенок от 3 беременности, протекавшей на фоне токсикоза и гестоза. Родился в срок путем кесарева сечения с массой тела 2850 г и длиной 49 см. Оценка по шкале Апгар составила 7/9 баллов. Период новорожденности протекал благоприятно. Раннее развитие соответствовало возрасту. Обращала на себя внимание задержка роста.

Анамнез заболевания. Дебют заболевания в 1 год 3 месяца, спустя 2 месяца от момента начала самостоятельной ходьбы, когда родители обратили внимание на постепенно прогрессирующие варусные деформации нижних конечностей. Неоднократно проходил курсы реабилитационных мероприятий, включающие физиолечение и массаж, на фоне которых заболевание продолжало прогрессировать. В возрасте 3 лет педиатром по месту жительства заподозрен рахит, назначены дополнительные методы обследования. В сыворотке крови отмечалось снижение уровня неорганического фосфора до 0,88 ммоль/л при возрастной норме 1,39–2,21 ммоль/л, другие показатели, в том числе активность щелочной фосфатазы, были в пределах референсных значений. По данным биохимического анализа мочи в разовой порции отклонений не выявлено. В 3 года дважды проводилась экстракция премоляров.

В возрасте 4 лет впервые обследовался и получал лечение в Институте Вельтищева. По результатам осмотра и проведенных лабораторно-инструментальных исследований у мальчика С. был установлен гипофосфатемический рахит. Проведен консилиум врачей о назначении заместительной терапии незарегистрированным на территории Рос-

сийской Федерации препаратом дигидрофосфата калия и дигидрата моногидрофосфата натрия из расчета 50 мг/кг/сут. Рекомендовано проведение ДНК диагностики. В межгоспитальный период проведено оперативное лечение — гемиэпифизиодез зон роста бедренной и большеберцовой костей с обеих сторон, с последующим удалением блокаторов зон роста через полгода.

Данные осмотра. Показатели физического развития probanda: рост — 113,5 см (-2,29 SD), масса тела 21,5 кг (-1,09 SD), индекс массы тела — 16,7 (+0,64 SD). Осанка нарушена по сколиотическому типу. При осмотре нижних конечностей обращала на себя внимание их варусная деформация, контрактуры коленных суставов. По другим органам и системам патологии выявлено не было.

Результаты исследований. В сыворотке крови определялись нормальные уровни паратиреоидного гормона и витамина D, повышение активности щелочной фосфатазы до 500 МЕ/л при норме 104–345 МЕ/л, снижение фосфора до 0,87 ммоль/л при норме 1,33–1,94 ммоль/л. Определен высокий уровень фракционной экскреции фосфатов — 23% при норме менее 15%, низкий уровень фракционной (тубулярной) реабсорбции — 77% при норме 85–95%, ускоренный клиренс фосфора — 0,37 мл/сек при норме 0,01–0,25 мл/сек.

Ультразвуковое исследование почек обнаружило увеличение их объема, нефроптоз справа и повышение подвижности левой почки. По рентгенологическим данным наблюдались умеренное разрежение структуры костей предплечий и кистей, варусная деформация большеберцовых костей с умеренным расширением зон роста (рис. 1а). Индекс рахита (RSS) составил 0.

Молекулярно-генетическая диагностика. Методом прямого автоматического секвенирования проведен анализ 5, 6, 8 и 9 экзонов гена *CYP27B1* (OMIM:

609506) и 3, 9, 12, 21, и 22 экзонов гена *PHEX* (OMIM: 300550), патогенных вариантов не обнаружено. Панельное секвенирование 166 генов, ответственных за костную патологию, также не обнаружило патогенных и вероятно патогенных нуклеотидных вариантов. С целью дальнейшего поиска причины заболевания в двух независимых лабораториях было выполнено WGS, однако значимых генетических вариантов, являющихся вероятной причиной заболевания, выявлено не было.

Поскольку диагноз гипофосфатемический рахит не вызывал сомнения, в Лаборатории клинической геномики и биоинформатики института Вельтищева был проведен биоинформационный анализ данных полногеномного секвенирования. В гене *PHEX* (NM_000444.6; ENST00000379374.5) в инtronе 21 из 21 выявлен гемизиготный вариант c.2147+1197A>G, не зарегистрированный в популяционных базах данных человека, ранее описанный в литературе и предсказанный нарушать сплайсинг алгоритмами SpliceAI (DS=0,26), Pangolin (DS=0,49) (рис. 1б) [23]. По совокупности сведений обнаруженный вариант имел неопределенную клиническую значимость. При проведении анализа сегрегации — обследовании матери на предмет носительства — доказано его *de novo* происхождение.

Клинический случай № 2

Пробанд В., мальчик 12 лет, наблюдался в отделении врожденных и наследственных заболеваний Института Вельтищева с жалобами на быструю утомляемость, боли и деформации нижних конечностей, задержку роста, избыток массы тела.

Генеалогический анамнез. Брак не родственный. Мать probanda имеет рахитоподобное заболевание, характеризующееся задержкой роста, варусной деформацией нижних конечностей, гипофосфатемией (рис. 2а).

Пациент С.

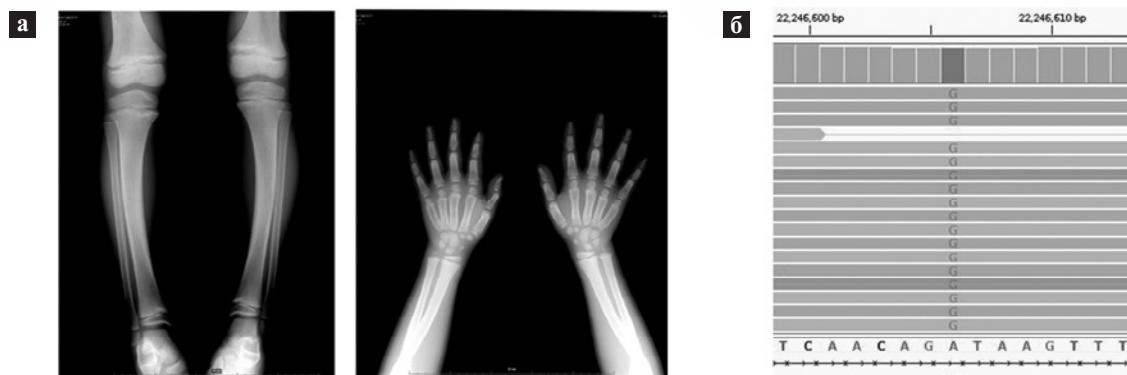


Рис. 1. а — Рентгенологический снимок костей голеней и кистей probanda. б — Однонуклеотидная замена, представленная в программе для визуализации геномных данных — IGV

Fig. 1. а — Radiographic image of the proband's shin and hand bones. б — Single nucleotide variant, visualized using the Integrative Genomics Viewer (IGV) software

Анамнез жизни. Настоящая беременность вторая, протекала неблагоприятно с угрозой прерывания и на фоне повышения артериального давления у матери во второй половине беременности. Ребенок родился на 38 неделе путем кесарева сечения, с массой тела 3330 г и длиной 50 см. Период новорожденности протекал благоприятно.

Анамнез заболевания. В возрасте 1,5 лет родители впервые обратились к врачу-ортопеду с жалобами на искривление нижних конечностей, было заподозрено рахитоподобное заболевание. Назначена терапия препаратами кальция, фосфора и витамина D с положительной динамикой в биохимическом анализе крови. С 6 лет наблюдается в педиатрическом отделении врожденных и наследственных заболеваний Института Вельтищева.

Данные осмотра. Показатели физического развития probanda: рост 138 см (-2,24 SD), вес 50 кг (+0,71 SD), индекс массы тела = 26,3 (+2,33 SD). Окружность головы — 56 см (z-score: 1,51). Лицевой фенотип без особенностей. При осмотре отмечалась варусная деформация тазобедренных суставов, варусная деформация нижних конечностей с торсионной деформацией дистальных отделов голеней, нарушение осанки по типу сколиоза. Ограничения подвижности в суставах не выявлено. При физикальном обследовании других органов и систем патологии не выявлено.

Данные исследований. В биохимическом анализе крови выявлено повышение активности щелочной фосфатазы до 1079 МЕ/л при норме 42–362 МЕ/л, снижение фосфора неорганического до 0,71 ммоль/л при норме 1,33–1,94 ммоль/л, повышение паратиреоидного гормона до 132,7 при норме 16–62 пг/мл. Показатели ионизированного кальция, 25-ОН витамина D в пределах референсных значений.

При ультразвуковом исследовании обнаружено увеличение почек в объеме, утолщение их паренхимы, а также левосторонний нефроптоз. При рентгенографии выявлены изменения формы костей с умеренным расширением метафизов лучевых и локтевых костей, деформацией зон роста в виде чащ, нечеткими, бахромчатыми контурами, варусная деформация большеберцовых костей, расширение и разрежение плотности зон роста (рис. 2б). При установлении костного возраста отмечено его отставание от паспортного, дефицит составлял 2 года 10 месяцев. Индекс рахита (RSS) равен 4 баллам на верхней конечности, 3 баллам — на нижней. По результатам лабораторных, инструментальных и клинических данных установлен диагноз X-сцепленного доминантного гипофосфатемического рахита.

Молекулярно-генетическая диагностика. Проведен поиск частых мутаций в гене *PHEX*, в ходе которого патогенных мутаций не выявлено. Методом массового параллельного секвенирования проведен анализ 166 генов, ответственных за костную патологию — значимых мутаций, ассоциированных с фенотипом,

не выявлено. При анализе полногеномных данных значимых вариантов, ассоциированных с фенотипом, не обнаружено.

Однако диагноз X-сцепленного доминантного гипофосфатемического рахита не вызывал сомнения, в связи с чем проведен биоинформационический пересмотр данных, полученных в результате WGS ранее. При биоинформационическом переанализе данных в Лаборатории клинической геномики и биоинформатики Института Вельтищева выявлена гемизиготная делеция chrX:22030553_22033026del (hg38) в гене *PHEX* (NM_000444.6; ENST00000379374.5), протяженностью 2474 п.н., перекрывающая 5'-нетранслируемую область и 1–6 кодоны 1 экзона (рис. 2в). Делеция приводит к потере старт-кодона и утрате функции белка. Патогенные варианты в гене *PHEX* приводят к развитию X-сцепленного доминантного гипофосфатемического рахита.

Обсуждение

Ген *PHEX* (Phosphate Regulating Endopeptidase Homolog X-Linked) расположен на X-хромосоме (Xp22.2-p22.1) и кодирует мембранный-связанную эндопептидазу, опосредованно регулирующую уровень фосфатов в сыворотке крови. Патогенные варианты в *PHEX* приводят только к X-сцепленному доминантному гипофосфатемическому рахиту (OMIM: 307800), при этом на долю точковых приходится 85%, а на крупные делеции/дупликации — 15% [24]. WGS позволяет выявлять как точковые (включая интронные), так и структурные варианты в связи с равномерностью покрытия, что делает его универсальным диагностическим методом.

В обсуждении отдельно остановимся на вариантах, расположенных в 21 интроне и 22 экзоне, а также протяженных делециях 1 экзона. Вариант c.2147+1197A>G в гене *PHEX*, обнаруженный у нашего пациента С., инициирует скрытый донорный сайт сплайсинга интрана 21, что приводит к образованию 84-п.н. псевдоэкзона между экзонами 21 и 22. Этот псевдоэкзон кодирует 17 аминокислотных остатков (а.о.), завершающихся стоп-кодоном TGA, что вызывает преждевременную терминацию трансляции, которая в норме должна была произойти спустя 33 а.о. В результате образуется укороченный белок, не содержащий два важных цистeinовых остатка (Cys733 и Cys746), которые участвуют в образовании дисульфидных мостиков, стабилизирующих третичную структуру эндопептидазы. Несмотря на появление стоп-кодона, экспрессия мРНК не снижается из-за расположения варианта в пределах 50 п.н. от последнего экзон-экзонного соединения, что исключает механизм нонсенс-опосредованной деградации. Вариант обнаружен у мальчика с семейным анамнезом гипофосфатемии и деформацией нижних конечностей, проявившейся в возрасте 13 месяцев. У него была выявлена повышенная активность щелочной фосфатазы (535 Ед/л) и признаки рахита,

несмотря на год предшествующего лечения фосфатами и кальцитриолом, что привело к переходу на терапию Бурсумабом в возрасте 15 лет. Уже через месяц после начала лечения Бурсумабом у пациента исчезли боли в костях, увеличилась выносливость, нормализовался уровень фосфора в крови и практически исчезли проявления рахита [23].

L. Koronen и соавт. описали двух пациентов — женщину 65 лет и ее сына 29 лет [25]. Мать была больна с 1,5 лет, диагноз установлен клинически и не подтвержден молекулярно-генетическими методами. Ее сын наблюдался в клинике с 1,5 месяцев из-за установленного диагноза матери. На момент

осмотра у сына 29 лет был рост 162 см (-2,5 SD), нефротициноз с 26 лет, в анамнезе стрессовые переломы бедра и голени. Сыну сначала провели секвенирование панели генов, ассоциированных с гипофосфатемическим рахитом, затем экзонов гена *PHEX*, полноэкзонного и последующего полногеномного секвенирования. По результатам последнего исследования выявлен вариант *PHEX*:c.2147+1197A>G. Проведен транскриптомный анализ, который подтвердил образование псевдоэкзона между 21 и 22 экзоном гена *PHEX* [25].

Для более глубокого понимания связи между фенотипом и вариантами, приводящими к удер-

Пациент В.

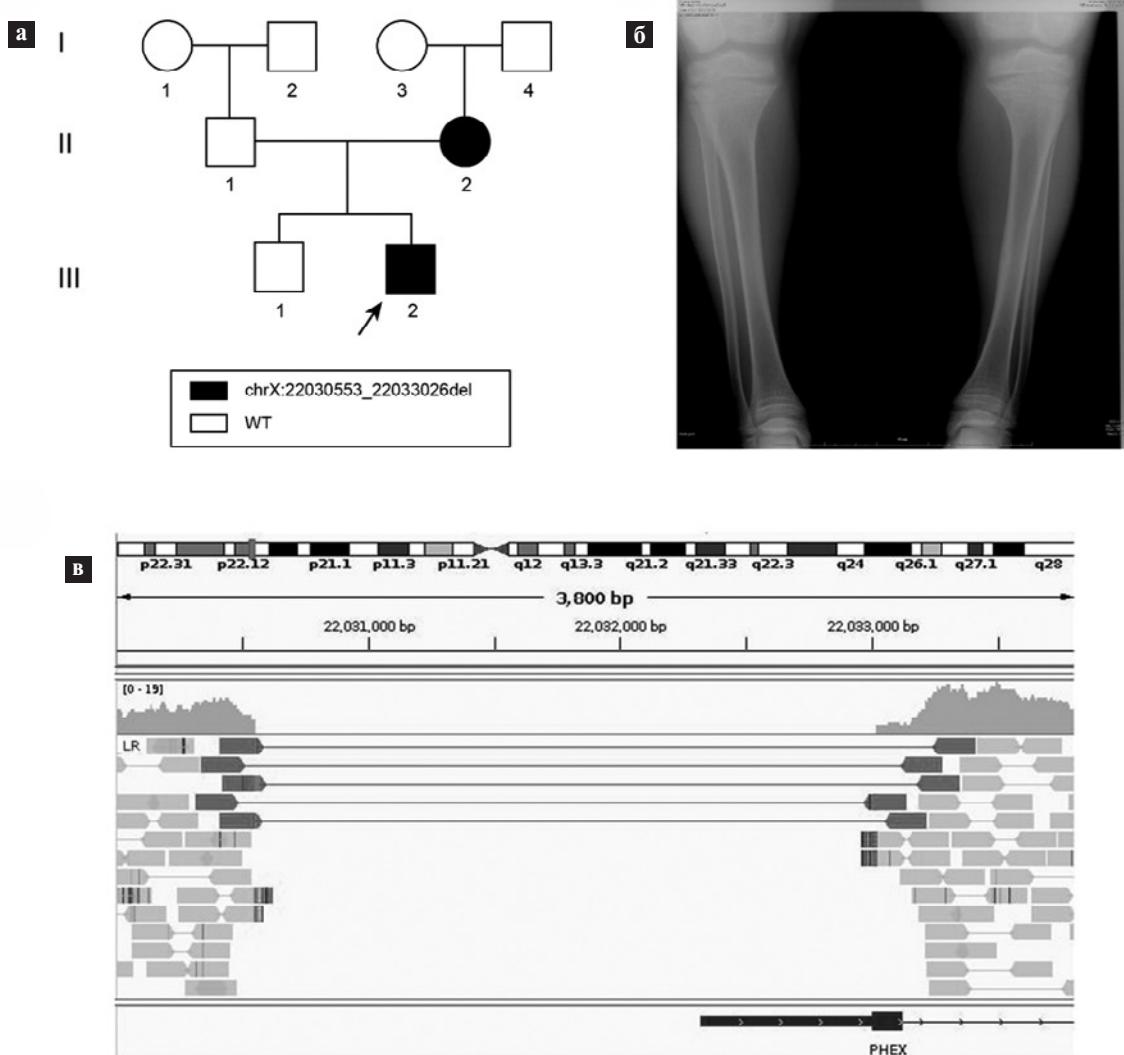


Рис. 2. а — Родословная probanda. Заболевания у родственников: у матери — рахитоподобное заболевание, у отца — астма, по линии отца у бабушки — астма. б — Рентгенологический снимок костей голеней probanda. в — Делеция, представленная в программе для визуализации геномных данных — IGV

Fig. 2. a — Pedigree of the proband. Familial diseases include rickets-like disorder in the mother, asthma in the father, and asthma in the paternal grandmother. . b — Radiographic image of the proband's lower leg bones. в — Deletion visualized using the Integrative Genomics Viewer (IGV) software

жанию интрана 21 или сдвигу рамки считывания в самом начале экзона 22 гена *PHEX*, мы провели анализ пациентов, описанных в литературе, у которых была доступна информация хотя бы о биохимических показателях крови.

S. Capelli с соавт. описали пятилетнюю пациентку женского пола с X-гипофосфатемическим рахитом, ассоциированным с вариантом c.2150_2151insTG в экзоне 22 гена *PHEX*, который вызывал сдвиг рамки считывания и преждевременное появление стоп-кодона (p.Asn718Alafs*23). Вариант был унаследован от матери. Биохимический анализ крови выявил гипофосфатемию (уровень фосфора в сыворотке 0,71 ммоль/л), снижение почечной реабсорбции фосфатов (TRP 79%, при норме 80–90%), а также повышенную активность щелочной фосфатазы (879 Ед/л) и дефицит 25-ОН витамина D (10,3 нг/мл). Уровень паратгормона оставался в пределах нормы (51 пг/мл), что исключало первичный гиперпаратиреоз [26].

Вариант c.2150T>A (IVS21+2T>A) гена *PHEX* был обнаружен у пациентки с дебютом X-сцепленного доминантного гипофосфатемического рахита в возрасте 3 лет. Ее уровень фосфора в сыворотке составлял 0,904 ммоль/л, TRP — 79%, а активность щелочной фосфатазы была повышена до 758 Ед/л. При этом паратгормон (45,6 пг/мл) и 25-ОН витамин D (23 нг/мл) не выходили за рамки референсных значений [26].

Пациент мужского пола с мутацией c.2148–2A>G в инtronе 21 гена *PHEX* имел низкий рост на момент постановки диагноза (-1,7 SD) [27]. В возрасте

Таблица. Влияние вариантов в гене *PHEX* на клинико-лабораторные показатели и фенотип

Table. The effect of variants in the *PHEX* gene on clinical and laboratory parameters and phenotype

| Вариант | Тип мутации | Фосфор сыворотки крови (ммоль/л) | TRP (%) | Щелочная фосфатаза (Ед/л) | Дополнительные данные |
|---|--|----------------------------------|---------|---------------------------|---|
| Нуклеотидные варианты в инtronе 21 и экзоне 22 | | | | | |
| c.2150_2151insTG (Экзон 22) | Сдвиг рамки считывания | 0,71 | 79 | 879 | Дефицит 25-ОН витамина D (10,3 нг/мл), нормальный уровень паратгормона [26] |
| c.2150T>A (IVS21+2T>A) (Инtron 21) | Нарушение сплайсинга | 0,904 | 79 | 758 | Нормальный уровень паратгормона и 25-ОН витамина D [26] |
| c.2148–2A>G (Инtron 21) | Нарушение сплайсинга | Снижен | - | Умеренно повышен | Низкий рост (-1,7 SD), улучшение на терапии [27] |
| c.2148–1G>T (Инtron 21) | Нарушение сплайсинга | Снижен | - | - | Нормальный рост (-0,6 SD), гиперпаратиреоз, почечная недостаточность [28] |
| c.2148–10C>A (Инtron 21) | Нарушение сплайсинга | 0,614 | - | - | Низкий уровень 1,25-(ОН) ₂ D ₃ (65 пмоль/л) [29] |
| c.2147+1197A>G (Инtron 21) | Активация криптического донорного сайта сплайсинга | 0,81 | 60 | 414 | Дефицит 25-ОН витамина D (13,7 нг/мл) и нормальный уровень паратгормона (38,1 пг/мл) [Пациент С. из нашей статьи] |
| | | 0,89 | 86,9 | 535 | Нормальный уровень 25-ОН витамина D (22 нг/мл), улучшение на терапии [23] |
| | | 0,32–1,08 | 83 | 57–178 | Нормальный уровень 25-ОН витамина D (21,6–43,2 нг/мл), гиперпаратиреоз, низкий рост (-2,5 SD) [25] |
| | | 0,39–0,61 | 65 | 50–106 | Нормальный уровень 25-ОН витамина D (19,6–42,4), низкий рост (-3,0 SD) [25] |
| | | | | | |
| | | | | | |
| Протяженные делеции в гене <i>PHEX</i> | | | | | |
| chrX:22030553_22033026del | Делекция | 0,71 | 77 | 1079 | Нормальный уровень 25-ОН витамина D (18,7 нг/мл) и повышенный уровень паратгормона (132,7 пг/мл) [Пациент В. из нашей статьи] |
| Делеция 1 экзона | Делекция | 2,42 | 93,76 | 1012 | Нормальный уровень 25-ОН витамина D (43,08 нг/мл) и нормальный уровень паратгормона (32,92 пг/мл) [29] |

до 1 года ему было начато лечение, продлившееся 8 лет и 11 месяцев, включающее прием фосфатов (46 мг/кг/день) и активной формы витамина D (1,25-(OH)₂D₃, 73 нг/кг/день), с положительной динамикой — показатель роста улучшился до +0,4 SD. Несмотря на проводимую терапию, уровень фосфора в сыворотке оставался сниженным, а активность щелочной фосфатазы — умеренно повышенной.

У 23-летнего пациента с ростом 175 см (+0,6 SD) был X-сцепленный доминантный гипофосфатемический ракит, сопровождающийся скелетными и зубными аномалиями. Пациент перенес удаление 3,5 парашитовидных желез из-за гиперпаратиреоза и страдал почечной недостаточностью. Несмотря на отсутствие переломов, по данным денситометрии его Z-показатель позвоночника равнялся 1,7 SD. У него была обнаружена гипофосфатемия с уровнем фактора роста фибробластов 23 в сыворотке 2430 пг/мл (значительно выше нормы) и сниженный максимум тубулярной реабсорбции фосфатов к скорости клубочковой фильтрации (TmP/GFR) — 41 ммоль/л. Генетический анализ выявил вариант c.2148-1G>T в гене *PHEX*, при этом случаев заболевания X-сцепленного доминантного гипофосфатемического ракита в семье не было [28].

Пациентка с вариантом c.2148-10C>A в гене *PHEX* на момент наблюдения в возрасте 38,9 лет имела низкий уровень фосфора в сыворотке крови (0,614 ммоль/л) [29].

Несмотря на то, что у всех пациентов имели место изменения в С-конце белка *PHEX*, а именно его укорочение и замена аминокислот, каждый случай был уникален, что подчеркивает важность индивидуального подхода в диагностике и лечении X-сцепленного доминантного гипофосфатемического ракита (таблица).

По всей видимости, аномальный сплайсинг *PHEX* в конечном итоге приводит к формированию нефункционального белка и развитию заболевания. По данным P.G. Park и соавт., более тяжелым фенотипом обладают больные, у которых обнаруживаются варианты, приводящие к синтезу белка укороченной длины, но другие авторы опровергают эти результаты [30, 31]. При этом среди наших больных более тяжелый фенотип был у пациента В.

Важно, что у пациента С. каузативный вариант мог быть обнаружен при проведении полногеномного секвенирования в первый и во второй раз,

но был отвергнут при интерпретации данных. Возможно, из-за того, что первые данные о возможной каузативности глубоких инtronных вариантов в данном гене появились только в 2023 году [23].

В литературе имеются сведения только об одной пациентке с делецией 1 экзона гена *PHEX*. У нее присутствовала гипофосфатемия (0,93 ммоль/л), значительное повышение активности щелочной фосфатазы (1012 Ед/л) и остаты (250 Ед/л) на фоне нормального уровня кальция (2,42 ммоль/л), 25-ОН витамина D (43,08 нг/мл) и паратиреоидного гормона (32,92 пг/мл). Тубулярная реабсорбция фосфатов (93,76%) была аномально высокой [29].

При этом у нашего пациента В. в область делеции попадает не только 1 экзон, но и 5'-нетранслируемая область, что приводит к утрате старт-кодона и полному отсутствию синтеза белка. Данная делеция привела к формированию более тяжелого фенотипа, чем у пациентки из статьи Y. Lin и соавт. [29].

CNV не был выявлен при проведении полногеномного секвенирования, так как делеции подобного размера выявляются стандартными биоинформационными пайплайнами и требуют дополнительного анализа в геномном браузере IGV.

Заключение

Таким образом, в отдельных случаях диагностики X-сцепленного доминантного гипофосфатемического ракита стандартные методы молекулярно-генетического анализа (секвенирование по Сэнгеру, таргетное NGS) оказываются недостаточно информативными. Применение полногеномного секвенирования в диагностическом алгоритме позволяет повысить точность верификации диагноза и, следовательно, обеспечить более раннее начало патогенетической терапии. Это, в свою очередь, способствует улучшению прогноза заболевания и повышению качества жизни пациентов. Именно повторный биоинформационный анализ данных полногеномного секвенирования в обоих случаях позволил установить точный диагноз и назначить препарат Бурсумаб. Исходя из этого, при четкой клинической картине заболевания и при невозможности выявить причину заболевания стандартными методами, требуется уделять особое внимание глубоким инtronным вариантам и дополнительному анализу CNV в геномном браузере IGV.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Кулкова К.С., Тюльпаков А.Н. Гипофосфатемический ракит: патогенез, диагностика и лечение. Ожирение и метаболизм. 2018; 15(2): 46–50. [Kulikova K.S., Tiul'pakov A.N. Hypophosphatemic rickets: pathogenesis, diagnosis and treatment. Ozhirenie i metabolizm. 2018; 15(2): 46–50. (in Russ.)] DOI: 10.14341/omet9672
2. Laurent M.R., Harvengt P., Mortier G.R., Böckenhauer D. X-Linked Hypophosphatemia. 2012 Feb 9 [updated 2023 Dec 14]. In: Adam M.P., Feldman J., Mirzaa G.M., Pagon R.A., Wallace S.E., Amemiya A., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2025. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK83985/#> Ссылка активна на 14.07.2025
3. Федеральная служба государственной статистики. [Federal State Statistics Service (in Russ)] <https://rosstat.gov.ru/folder/313/document/197667> Ссылка активна на 14.07.2025
4. Razali N.N., Hwu T.T., Thilakavathy K. Phosphate homeostasis and genetic mutations of familial hypophosphatemic rick-

- ets. J Pediatr Endocrinol Metab. 2015; 28(9–10): 1009–1017. DOI: 10.1515/jpem-2014-0366
5. Thompson D.L., Sabbagh Y., Tenenhouse H.S., Roche P.C., Drezner M.K., Salisbury J.L., et al. Ontogeny of PheX/PHEX protein expression in mouse embryo and subcellular localization in osteoblasts. J Bone Miner Res. 2002; 17(2): 311–320. DOI: 10.1359/jbmr.2002.17.2.311
6. Kamenický P., Briot K., Munns C.F., Linglart A. X-linked hypophosphataemia. Lancet. 2024; 404(10455): 887–901. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)01305-9
7. Haffner D., Emma F., Eastwood D.M., Duplan M.B., Bacchetta J., Schnabel D., et al. Clinical practice recommendations for the diagnosis and management of X-linked hypophosphataemia. Nat Rev Nephrol. 2019; 15(7): 435–455. DOI: 10.1038/s41581-019-0152-5
8. Imel E.A., Glorieux F.H., Whyte M.P., Munns C.F., Ward L.M., Nilsson O., et al. Burosumab versus conventional therapy in children with X-linked hypophosphataemia: a randomised, active-controlled, open-label, phase 3 trial. Lancet. 2019; 393(10189): 2416–2427. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)30654-3
9. Imel E.A. Burosumab for Pediatric X-Linked Hypophosphatemia. Curr Osteoporos Rep. 2021; 19(3): 271–277. DOI: 10.1007/s11914-021-00669-9
10. Ward L.M., Glorieux F.H., Whyte M.P., Munns C.F., Portale A.A., Höglér W., et al. Effect of Burosumab Compared With Conventional Therapy on Younger vs Older Children With X-linked Hypophosphatemia. J Clin Endocrinol Metab. 2022; 107(8): e3241–e3253. DOI: 10.1210/clinem/dgac296
11. Кулкова К.С., Тюльпаков А.Н. Диагностика и ведение X-сцепленного доминантного гипофосфатемического рахита: учебно-методическое пособие. М.: Триумф, 2023: 44. [Kulikova K., Tyulpakov A. Diagnosis and management of X-linked dominant hypophosphatemic rickets. Moscow: Triumf, 2023: 44 (in Russ.)]
12. Marcel M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. EMBnet journal. 2011; 17(1). DOI: 10.14806/ej.17.1.200
13. Heng L. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. Source: arXiv. 2013. DOI: 10.48550/arXiv.1303.3997
14. Faust G.G., Hall I.M. SAMBLASTER: fast duplicate marking and structural variant read extraction. Bioinformatics. 2014; 30(17): 2503–2505. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu314
15. “Picard Toolkit.” 2019. Broad Institute, GitHub Repository. Broad Institute. <https://broadinstitute.github.io/picard/>. Ссылка активна на 14.07.2025
16. Danecek P., Bonfield J.K., Liddle J., Marshall J., Ohan V., Pollard M.O., et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. Gigascience. 2021; 10(2): giab008. DOI: 10.1093/gigascience/giab008
17. Poplin R., Ruano-Rubio V., DePristo M.A., Fennell T.J., Carneiro M.O., Van der Auwera G.A., et al. Scaling accurate genetic variant discovery to tens of thousands of samples. bioRxiv. 2017. DOI: 10.1101/201178
18. Van der Auwera G.A., Carneiro M.O., Hartl C., Poplin R., Del Angel G., Levy-Moonshine A., et al. From FastQ Data to High-Confidence Variant Calls: The Genome Analysis Toolkit
- Best Practices Pipeline. Curr Protoc Bioinformatics. 2013; 43(110): 11.10.1–11.10.33. DOI: 10.1002/0471250953.bi1110s43
19. McLaren W., Gil L., Hunt S.E., Riat H.S., Ritchie G.R., Thormann A., et al. The Ensembl Variant Effect Predictor. Genome Biol. 2016; 17(1): 122. DOI: 10.1186/s13059-016-0974-4
20. Roller E., Ivakhno S., Lee S., Royce T., Tanner S. Canvas: versatile and scalable detection of copy number variants. Bioinformatics. 2016; 32(15): 2375–2377. DOI: 10.1093/bioinformatics/btw163
21. Chen X., Schulz-Trieglaff O., Shaw R., Barnes B., Schlesinger F., Källberg M., et al. Manta: rapid detection of structural variants and indels for germline and cancer sequencing applications. Bioinformatics. 2016; 32(8): 1220–1222. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv710
22. Robinson J.T., Thorvaldsdóttir H., Winckler W., Guttman M., Lander E.S., Getz G., et al. Integrative genomics viewer. Nat Biotechnol. 2011; 29(1): 24–26. DOI: 10.1038/nbt.1754
23. Grimblay C., Ludwig K., Wu Z., Caluseriu O., Rosolowsky E., Alexander R.T., et al. X-linked hypophosphatemia caused by a deep intronic variant in PHEX identified by PCR-based RNA analysis of urine-derived cells. Bone. 2023; 176: 116839. DOI: 10.1016/j.bone.2023.116839
24. Stenson P.D., Mort M., Ball E.V., Chapman M., Evans K., Azevedo L., et al. The Human Gene Mutation Database (HGMD®): optimizing its use in a clinical diagnostic or research setting. Hum Genet. 2020; 139(10): 1197–1207. DOI: 10.1007/s00439-020-02199-3
25. Koponen L., Pekkinen M., Legebeke J., Muurinen M., Rusanen S., Hussain S. A deep intronic PHEX variant associated with X-linked hypophosphatemia in a Finnish family. J BMR Plus. 2024; 9(2): ziae169. DOI: 10.1093/jbmrpl/ziae169
26. Capelli S., Donghi V., Maruca K., Vezzoli G., Corbetta S., Brandi M.L., et al. Clinical and molecular heterogeneity in a large series of patients with hypophosphatemic rickets. Bone. 2015; 79: 143–149. DOI: 10.1016/j.bone.2015.05.040
27. Quinlan C., Guegan K., Offiah A., Neill R.O., Hiorns M.P., Ellard S., et al. Growth in PHEX-associated X-linked hypophosphatemic rickets: the importance of early treatment. Pediatr Nephrol. 2012; 27(4): 581–588. DOI: 10.1007/s00467-011-2046-z
28. Beck-Nielsen S.S., Brixen K., Gram J., Brusgaard K. Mutational analysis of PHEX, FGF23, DMP1, SLC34A3 and CLCN5 in patients with hypophosphatemic rickets. J Hum Genet. 2012; 57(7): 453–458. DOI: 10.1038/jhg.2012.56
29. Lin Y., Xu J., Li X., Sheng H., Su L., Wu M., et al. Novel variants and uncommon cases among southern Chinese children with X-linked hypophosphatemia. J Endocrinol Invest. 2020; 43(11): 1577–1590. DOI: 10.1007/s40618-020-01240-6
30. Park P.G., Lim S.H., Lee H., Ahn Y.H., Cheong H.I., Kang H.G. Genotype and Phenotype Analysis in X-Linked Hypophosphatemia. Front Pediatr. 2021; 9: 699767. DOI: 10.3389/fped.2021.699767
31. Rodríguez-Rubio E., Gil-Peña H., Chocron S., Madariaga L., de la Cerda-Ojeda F., Fernández-Fernández M., et al. Phenotypic characterization of X-linked hypophosphatemia in pediatric Spanish population. [published correction appears in Orphanet J Rare Dis. Orphanet J Rare Dis. 2021; 16(1): 104. DOI: 10.1186/s13023-021-01729-0

Поступила: 11.08.25

Received on: 2025.08.11

Благодарности: Авторы выражают благодарность фонду «Геном жизни» за проведение бесплатного секвенирования полного генома.

Acknowledgements: The authors thank the Evogen laboratory and the Charity Fund for medical and social genetic aid projects “Life Genome” for the opportunity to conduct whole-genome sequencing.

Конфликт интересов:
Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported.