

# Идиопатическая инфантильная гиперкальциемия, тип 1: клинико-генетическая характеристика российской когорты детей

С.В. Папиж<sup>1</sup>, М.В. Шумихина<sup>2</sup>, А.Н. Тюльпаков<sup>3,4</sup>, Л.С. Приходина<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, ОСП «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева», отдел наследственных и приобретенных болезней почек имени профессора М.С. Игнатовой, 125412, Москва, ул. Талдомская, д. 2, Российская Федерация

<sup>2</sup> ГБУЗ города Москвы Детская городская клиническая больница имени Н.Ф. Филатова, 123001, Москва, ул. Садовая-Кудринская, д. 15, Российская Федерация

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», 115522, Москва, ул. Москворечье, д. 1, Российская Федерация

<sup>4</sup> ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии" МЗ РФ, 117292, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11, Российская Федерация

<sup>5</sup> ФГОУ ДПО Российская Медицинская Академия Непрерывного профессионального образования МЗ РФ, кафедра педиатрии имени академика Г.Н. Сперанского, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, Российская Федерация

**Для цитирования:** Папиж С.В., Шумихина М.В., Тюльпаков А.Н., Приходина Л.С. Идиопатическая инфантильная гиперкальциемия, тип 1: клинико-генетическая характеристика российской когорты детей. *Нефрология и диализ.* 2023. 25(1):76-88. doi: 10.28996/2618-9801-2023-1-76-88

## Idiopathic infantile hypercalcemia, type 1: clinical and genetic features of russian cohort of patients

S.V. Papizh<sup>1</sup>, M.V. Shumikhina<sup>2</sup>, A.N. Tiulpakov<sup>3,4</sup>, L.S. Prikhodina<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Veltischev Research Clinical Institute for Pediatrics and Pediatric Surgery, M.S. Ignatova Division of Inherited and Acquired Kidney Diseases, 2 Taldomskaya str., Moscow, 125412, Russian Federation

<sup>2</sup> Filatov Children City Hospital, 15 Sadovo-Kudrinskaya str., Moscow, 123001, Russian Federation

<sup>3</sup> Research Centre for Medical Genetics, 1 Moskvorechye str, Moscow, 115522, Russian Federation

<sup>4</sup> National Medical Research Center for Endocrinology, 11 Dm. Ulyanova str., Moscow, 117036, Russian Federation

<sup>5</sup> Russian Academy of Medical Continuous Postgraduate Education, G.N. Speransky Department of Pediatrics, 2/1 Barrikadnaya Str., bld.1, Moscow, 123242, Russian Federation

**For citation:** Papizh S.V., Shumikhina M.V., Tiulpakov A.N., Prikhodina L.S. Idiopathic infantile hypercalcemia, type 1: clinical and genetic features of russian cohort of patients. *Nephrology and Dialysis.* 2023. 25(1):76-88. doi: 10.28996/2618-9801-2023-1-76-88

**Ключевые слова:** идиопатическая инфантильная гиперкальциемия, дети, нефрокальциноз, паратгормон, витамин D

Адрес для переписки: Светлана Валентиновна Папиж  
e-mail: papijsveta@mail.ru

Corresponding author: Dr. Svetlana V. Papizh  
e-mail: papijsveta@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-6459-2795>

### Резюме

Идиопатическая инфантильная гиперкальциемия, тип 1 (ИИГ1) – редкое аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся нарушением катаболизма активных форм витамина D вследствие мутаций в гене *CYP24A1* с развитием гиперкальциемии, вторичным снижением уровня паратгормона (ПТГ), гиперкальциурии, медуллярного нефрокальциноза и/или уролитиаза.

**Цель:** определить клинические и молекулярно-генетические характеристики ИИГ1 у российской когорты детей с выявлением фенотипических особенностей течения заболевания в зависимости от возраста пациентов и потенциальных генотип-фенотипических ассоциаций.

**Материалы и методы:** проведен ретроспективный анализ историй болезни и амбулаторных карт 20 детей (11 девочек и 9 мальчиков) в возрасте 13 [10,0; 58,5] месяцев с генетически подтвержденной ИИГ1. Всем детям был проведен молекулярно-генетический анализ по технологии секвенирования нового поколения – полное секвенирование экзома ( $n=7$ ), клиническое секвенирование экзома с исследованием мутаций в 22 генах, ассоциированных с рахитоподобными заболеваниями ( $n=11$ ) и методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру гена *CYP24A1* ( $n=2$ ). Для выявления возрастных особенностей течения ИИГ1 пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от возраста на момент первичного обследования до постановки диагноза: 1-я группа – дети <24 месяцев ( $n=12$ ), 2-я группа – дети  $\geq 24$  месяцев ( $n=8$ ).

**Результаты:** наиболее частыми клинико-лабораторными проявлениями ИИГ1 у детей являлись медуллярный нефрокальциноз (100%) и снижение уровня ПТГ в крови (90%). Гиперкальциемия выявлена у 75% детей, гиперкальциурия – у 60% пациентов, уролитиаз у 20% детей с ИИГ1. Молекулярно-генетические исследования установили наиболее распространенные *CYP24A1* патогенные варианты: p.Arg396Trp (55%) и p.Glu143del (40%). Было выявлено 4 ранее не описанных *CYP24A1* варианта с неизвестным клиническим значением: p.Gly78Val, p.Arg396Gln, p.Met99Thr, p.Gln471Sfs\*21. У пациентов, обследованных до возраста 24 месяцев, по сравнению со старшей возрастной группой установлено повышение уровня ионизированного и общего кальция крови: 1,39 [1,35; 1,56] ммоль/л против 1,31 [1,24; 1,34] ммоль/л ( $p=0,013$ ) и 2,9 [2,71; 3,74] ммоль/л против 2,45 [2,36; 2,52] ммоль/л ( $p=0,001$ ), соответственно и снижение уровня ПТГ: 7,9 [3; 12,7] пг/мл против 14,6 [8,25; 15,85] пг/мл ( $p=0,038$ ).

**Заключение:** впервые установлены клинико-лабораторные и молекулярные характеристики ИИГ1 у российских детей. Повышение осведомленности о фенотипических особенностях течения ИИГ1 способствует увеличению клинической настороженности врачей в отношении данного заболевания у пациентов с нефрокальцинозом/уролитиазом, гиперкальциемией или гиперкальциурией. Молекулярно-генетические исследования, направленные на идентификацию мутаций в гене *CYP24A1* позволяют проводить раннюю диагностику заболевания с последующей минимизацией потребления витамина D для предотвращения последствий токсичности, и рекомендациями по питанию и образу жизни пациентов.

### Abstract

Idiopathic infantile hypercalcemia, type 1 (IIH1) is a rare autosomal recessive disorder characterized by hypercalcemia, low parathyroid hormone (PTH) serum level, hypercalciuria, nephrocalcinosis (NC), and/or urolithiasis. IIH1 caused by mutations in the *CYP24A1* gene that encodes a key enzyme responsible for the catabolism of active vitamin D.

**Aim:** to evaluate clinical features and molecular characteristics of IIH1 in Russian children and search for phenotype features of the disease in children with their age and potential genotype-phenotypic associations.

**Materials and methods:** we conducted a retrospective two-center longitudinal study of 20 children (9M/11F) with genetically confirmed IIH1. The median age of patients at the beginning of follow-up was 13 [10.0; 58.5] months. Genetic analysis was performed in all children using by *next generation sequencing* technology – complete exome sequencing ( $n=7$ ), clinical exome sequencing with the study of mutations in 22 genes associated with rickets-like diseases ( $n=11$ ), and direct automatic sequencing of the *CYP24A1* gene ( $n=2$ ). To identify age-related features of IIH1, patients were divided into 2 groups depending on their age at the time of the initial examination before diagnosis: group 1 included children <24 months ( $n=12$ ), and group 2 – children  $\geq 24$  months ( $n=8$ ).

**Results:** the most prevalent features of IIH1 were medullary NC (100%) and low PTH serum level (90%). Hypercalcemia was found in 75% of children, hypercalciuria in 60% of patients, and urolithiasis in 20% of the children. According to the results of a molecular genetic study, the most common *CYP24A1* variants were p.Arg396Trp (55%) and p.Glu143del (40%). Also 4 novel *CYP24A1* variants were identified:

p.Gly78Val, p.Arg396Gln, p.Met99Thr, p.Gln471SerfsTer21. In patients examined up to 24 months, serum levels of calcium ( $\text{Ca}^{2+}$  and total) were higher: 1.39 [1.35; 1.56] mmol/l vs. 1.31 [1.24; 1.34] mmol/l ( $p=0.013$ ) and 2.9 [2.71; 3.74] mmol/l vs. 2.45 [2.36; 2.52] mmol/l ( $p=0.001$ ), respectively, and serum level of PTH was lower: 7.9 [3.0; 12.7] pg/ml vs. 14.6 [8.25; 15.85] pg/ml ( $p=0.038$ ) than in older children.

**Conclusion:** a greater awareness of IHH1 phenotypes will increase clinical suspicion in patients presenting with NC or hypercalcemia. Testing for mutations in the *CYP24A1* gene can establish a definitive diagnosis and clinical management by minimizing vitamin D intake to prevent the effects of vitamin D toxicity and dietary and lifestyle advice.

**Key words:** idiopathic infantile hypercalcemia, children, nephrocalcinosis, parathyroid hormone, vitamin D

## Введение

Идиопатическая инфантильная гиперкальциемия, тип 1 (OMIM 143880) – редкое аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся нарушением метаболизма витамина Д с развитием выраженной гиперкальциемии, преимущественно, у детей раннего возраста. В 1950-х годах в Великобритании впервые обратили внимание на развитие гиперкальциемии у некоторых детей на фоне приема высоких доз витамина Д для профилактики рахита [1, 2]. Аналогичная картина наблюдалась в Восточной Германии в 90-х годах прошлого столетия при использовании сверхвысоких доз витамина Д для профилактики рахита у детей первого года жизни. Относительно высокие уровни 25-гидроксивитамина Д (25(OH)Д) и 1,25-дигидроксивитамина Д (1,25(OH)<sub>2</sub>Д) в крови детей с гиперкальциемией рассматривались авторами как повышенная чувствительность к витамину Д [3].

В 2011 году группой Schlingmann К.Р. с соавт. при обследовании детей с гиперкальциемией была выявлена ассоциация с мутациями в гене цитохрома-Р450 семейства 24 члена 1 подсемейства А (*CYP24A1*), расположенном на длинном плече хромосомы 20 в положении 13.2 (20q13.2) [4]. *CYP24A1* (OMIM 126065) ответственен за синтез фермента 25-гидроксивитамина Д-24-гидроксилазы, который участвует в процессе катаболизма активных форм витамина Д. Мутации в гене *CYP24A1* приводят к накоплению в организме активных форм витамина Д, которые, принимая непосредственное участие в гомеостазе кальция и фосфатов, способствуют увеличению кишечной абсорбции кальция, снижению уровня ПТГ в крови и, как следствие, повышению экскреции кальция с мочой за счет сниженной ПТГ-зависимой реабсорбции кальция в дистальном отделе нефрона с развитием медуллярного нефрокальциноза и/или уролитиаза [4]. Клиническая картина заболевания гетерогенна и зависит от возраста пациентов и остаточной активности фермента 24-гидроксилазы в крови [4-9]. Клинические проявления гиперкальциемии в виде отставания физического и психомоторного развития, рвоты, дегидратации, неврологических расстройств, наиболее ярко выражены на первом году жизни [3].

Истинная распространенность ИИГ1 в настоящее время остается неизвестной. По данным отдельных авторов распространенность ИИГ1 составляет от 1:47 000 до 1:32 465 новорожденных [6, 10].

Данные об опубликованных к настоящему времени клинических наблюдений, а также немногочисленных когортных исследованиях пациентов с ИИГ1 суммированы в опубликованном Cappellani D. с соавт. систематическом обзоре, который включает 221 пациента с ИИГ1 [7].

У пациентов с ИИГ1 идентифицированы различные варианты мутаций в гене *CYP24A1*: миссенс-, нонсенс-, сплайсинг-мутации, делеции, инсерции и др. [7]. У большинства больных выявляются гомозиготные и компаунд-гетерозиготные мутации. Однако гетерозиготные носители мутаций в гене *CYP24A1* также могут иметь различную клиническую симптоматику, в частности гиперкальциурию, нефрокальциноз и/или уролитиаз [11].

Первоначально в исследовании Schlingmann К.Р. с соавт. активность фермента 24-гидроксилазы определялась *in vitro* [4]. Однако в дальнейшем было предложено для определения активности фермента *in vivo* исследовать уровень 24-гидроксилированных метаболитов витамина Д в крови [12]. По результатам исследования Molin A. с соавт. (2015 г.) соотношение 25(OH)Д к метаболиту 24-гидроксилирования 24,25(OH)<sub>2</sub>Д (25(OH)Д:24,25(OH)<sub>2</sub>Д) в крови было резко повышено (более 80) у пациентов с гомозиготными или компаунд гетерозиготными *CYP24A1* мутациями и выраженной клинической симптоматикой, что позволило использовать данное соотношение как диагностический критерий для клинико-лабораторной верификации ИИГ1 [5].

В настоящее время в России опубликованы клинические наблюдения за 8 пациентами с ИИГ1 [13-15]. По данным российской и зарубежной литературы отсутствуют сравнительные когортные исследования возрастных особенностей фенотипа детей с ИИГ1.

Целью данного исследования явилось изучение клинико-генетической характеристики российской когорты детей с ИИГ1, поиск фенотипических особенностей течения заболевания в зависимости от возраста детей и генотип-фенотипических ассоциаций.

## Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ историй болезни и амбулаторных карт 20 детей (11 девочек и 9 мальчиков) с генетически подтвержденной ИИГ1, которые наблюдались в отделе наследственных и приобретенных болезней почек имени профессора М.С. Игнатовой НИКИ педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищевца ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова ( $n=15$ ) и в консультативно-диагностическом центре ГБУЗ города Москвы Детской городской клинической больницы имени Н.Ф. Филатова ( $n=5$ ) в период с 2012 по 2022 годы.

Критерием включения в исследование было наличие молекулярно-генетически подтвержденной ИИГ1 с гомозиготными ( $n=8$ ) или компаунд-гетерозиготными ( $n=12$ ) мутациями в гене *CYP24A1*. Пациенты с моноаллельными мутациями в гене *CYP24A1* в исследование не включались.

Всем пациентам проводилась оценка физического развития на основании массы и роста детей в соответствии с возрастом с применением центильных таблиц; доз и длительности приема витамина D.

Лабораторное обследование детей включало биохимическое исследование крови с определением уровня общего и ионизированного кальция, фосфора по стандартным методикам; исследование уровня ПТГ в крови методом хемилюминесцентного иммуноанализа; определение уровней 25(OH)D и 1,25(OH)<sub>2</sub>D в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии; разовый и суточный биохимические анализы мочи с определением экскреции кальция (в разовой порции кальций/креатининовый индекс, референсные значения в соответствии с возрастом [16]), в суточной моче отношение экскреции кальция к массе тела (норма менее 0,1 ммоль/кг/сут для всех возрастов [17] пациентов).

Гиперфосфатурия оценивалась при превышении референсных значений экскреции фосфора в моче в соответствии с возрастом и полом детей [18]. Гипофосфатемия определялась при снижении уровня фосфора в крови ниже референсных значений для конкретного возраста [19]. Тубулярная реабсорбция фосфатов (ТРФ) рассчитывалась по формуле [20]:

$$\text{ТРФ} = 1 - (\text{фосфат мочи} / \text{креатинин мочи} \times \text{креатинин крови} / \text{фосфат крови})$$

Снижение ТРФ оценивалось при снижении расчетного параметра менее 0,86 [20]. Расчет коэффициента максимальной тубулярной реабсорбции фосфатов по отношению к рСКФ (Т<sub>м</sub>РФ/рСКФ) (ммоль/л) осуществляли по формулам в зависимости от значений ТРФ [20]:

- при ТРФ  $\leq 0,86$

$$\text{Т}_{\text{м}}\text{РФ}/\text{рСКФ} = \text{ТРФ} \times \text{фосфат крови}$$

- при ТРФ  $\geq 0,86$

$$\text{Т}_{\text{м}}\text{РФ}/\text{рСКФ} = \alpha \times \text{фосфат крови},$$

$$\text{где } \alpha = 0,3 \times \text{ТРФ} / 1 - (0,8 \times \text{ТРФ})$$

Снижение Т<sub>м</sub>РФ/рСКФ оценивалось при Т<sub>м</sub>РФ/рСКФ менее референсных значений по полу и возрасту [20, 21].

Состояние функций почек у пациентов с ИИГ1 определялось по формуле Шварца с расчетом скорости клубочковой фильтрации (рСКФ) [22].

Всем детям проводилось ультразвуковое исследование (УЗИ) почек с определением степени выраженности повышения эхогенности медулярного слоя (медулярный нефрокальциноз): 1-я степень – наличие ободка повышенной эхогенности вокруг пирамидок, 2-я степень – диффузное повышение эхогенности пирамидок («белые пирамидки»), 3-я степень – диффузное повышение эхогенности пирамидок с наличием акустической тени [23, 24].

Молекулярно-генетический анализ был проведен по технологии секвенирования нового поколения (NGS) методом парно-концевого чтения – полное секвенирование экзона ( $n=7$ ), клиническое секвенирование экзона с исследованием мутаций в 22 генах, ассоциированных с рахитоподобными заболеваниями ( $n=11$ ) и методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру гена *CYP24A1* ( $n=2$ ). Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови наборами PureLink<sup>®</sup> Genomic DNA Mini Kit (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Секвенирование нового поколения образцов ДНК выполнялось с помощью секвенатора Illumina HiSeq2500 (Illumina Inc., San Diego, CA) со средним размером целевой области секвенирования не менее 70х, с полнотой секвенирования целевой области с покрытием, гарантирующим точность прочтения нуклеотидов не менее 98%.

Биоинформатический анализ был выполнен с применением баз данных, включая PolyPhen-2 [25], SIFT [26], HGMD [27], ClinVar [28], GWAS (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>), 1000genomes (<http://www.internationalgenome.org>), OMIM (<https://www.omim.org>). Потенциальная патогенность выявленных мутаций оценивалась в соответствии с рекомендациями Американского колледжа медицинской генетики и геномики и Ассоциации молекулярной патологии (2015) по совокупности сведений литературы, расчетных, функциональных и популяционных данных [29] и руководства по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования [30].

Для таргетного секвенирования следующего поколения использовалась авторская панель (технология Ion Ampliseq<sup>™</sup> Custom DNA Panel, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), содержащая праймеры для мультиплексной ПЦР и секвенирования кодирующих последовательностей 22 генов, ассоциированных с нарушениями фосфорно-кальциевого обмена.

Подготовка библиотек проводилась в соответствии с рекомендациями производителей. Секвенирование осуществлялось на полупроводниковом секвенаторе PGM (Ion Torrent, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Биоинформатическая обработка результатов секвенирования проводилась с помощью программных модулей Torrent Suite 4.2.1 (Ion Torrent, Waltham, MA, USA). Для аннотирования вариантов нуклеотидной последовательности использовался пакет программ ANNOVAR версия 2018 года [31]. После анализа полученных данных проводилась валидация идентифицированных мутаций методом прямого автоматического секвенирования по Сэнгеру на секвенаторе Genetic Analyzer Model 3130 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).

Нумерация кодирующей последовательности гена *CYP24A1* представлена по референсу NM\_000782.4 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>).

Для выявления возрастных особенностей течения ИИГ1 пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от возраста на момент первичного обследования до постановки диагноза: 1-я группа – дети <24 месяцев ( $n=12$ ), 2-я группа – дети  $\geq 24$  месяцев ( $n=8$ ).

Статистический анализ проводился с помощью непараметрических методов с оценкой медианы и интерквартильного размаха (25;75 перцентили). Значимость различий для непараметрических ко-

личественных переменных по одному признаку оценивали по ранговому U-критерию Манна-Уитни. Оценку значимости качественных бинарных признаков в независимых группах проводили с использованием точного критерия Фишера. Для оценки взаимосвязи между исследуемыми показателями использовался метод ранговой корреляции по Спирмену. Статистически значимыми считались различия при уровне значимости  $p < 0,05$ . Статистическая обработка данных проводилась с помощью стандартного пакета STATISTICA 10.0 (StatSoft, Inc., США) и GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, США).

## Результаты

Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 1. Медиана возраста детей с ИИГ1 на момент первичного обследования составила 13 [10,0; 58,5] месяцев. Первичное обследование было инициировано в связи с развитием острого пиелонефрита или персистирующей абактериальной асимптоматической лейкоцитурией в 50% (10/20) случаев; жалоб на снижение аппетита, недостаточную прибавку в массе, задержку физического и/или психомоторного развития, субфебрилитет у 20% (4/20) детей и выявление медулярного нефрокальциноза при УЗИ почек в рамках скринингового об-

Таблица 1 | Table 1

Клиническая характеристика детей с ИИГ1  
Clinical characteristics of children with IIN1

№ пациента	Пол	Возраст, мес*	Ca <sup>2+</sup> /Ca общ. в крови, ммоль/л	ПТГ в крови, пг/мл	1,25(OH) <sub>2</sub> D в крови, пг/мл	Ca/Сг мочи, ммоль/ммоль	Са мочи, ммоль/кг/сут	НК, степень	рСКФ (мл/мин/1,73 м <sup>2</sup> )
1	Ж	56	1,37↑/2,55	16,7	н/д	1,3↑	0,22↑	2	75,2
2	М	10	1,35↑/2,56	14,5↓	40,2	0,8	0,06	2	67,9
3	Ж	14	1,45↑/2,71↑	13,3↓	20,8	1,1	0,17↑	3	63,7
4	Ж	62	1,29/2,32	15,0↓	16,7	1,7↑	0,24↑	2	73,0
5	М	61	1,34↑/2,33	28,0	47,8	0,6	0,08	2	85,2
6	М	12	1,36↑/2,9↑	5,9↓	26,2	0,7	0,15↑	2	55,5
7	Ж	20	1,35↑/2,39	12,3↓	81,4	1,6↑	0,11↑	3	54,7
8	Ж	24	1,34↑/2,74↑	6,2↓	35,1	2,5↑	0,39↑	2	84,0
9	М	10	2,67↑/4,03↑	2,2↓	17,3	2,0	0,04	2	34,2
10	Ж	10	1,35↑/2,9↑	8,0↓	н/д	1,6	0,08	2	85,0
11	М	9	1,39↑/3,74↑	3,0↓	н/д	3,0↑	0,06	2	82,0
12	М	6	1,91↑/5,2↑	7,8↓	41,6	0,7	0,03	2	80,0
13	М	10	1,53↑/н/д	10,0↓	45,3	0,5	0,41↑	2	100,0
14	Ж	6	1,4↑/2,85↑	13,1↓	15,44	0,4	0,14↑	2	70,3
15	Ж	24	н/д/2,4	10,3↓	26,5	0,6	0,12↑	2	75,7
16	М	72	1,24/2,49	15,0↓	н/д	0,7	0,17↑	3	142,0
17	М	9	1,6↑/3,08↑	3,0↓	н/д	1,8	0,4↑	3	111,0
18	Ж	77	н/д/2,42	3,0↓	н/д	0,8	н/д	2	89,8
19	Ж	139	1,24/2,5	14,2↓	н/д	0,5	н/д	3	101,0
20	Ж	11	1,23/2,76↑	3,0↓	н/д	2,5↑	н/д	2	140,0

\* возраст на момент первичного обследования; НК – нефрокальциноз; н/д – нет данных

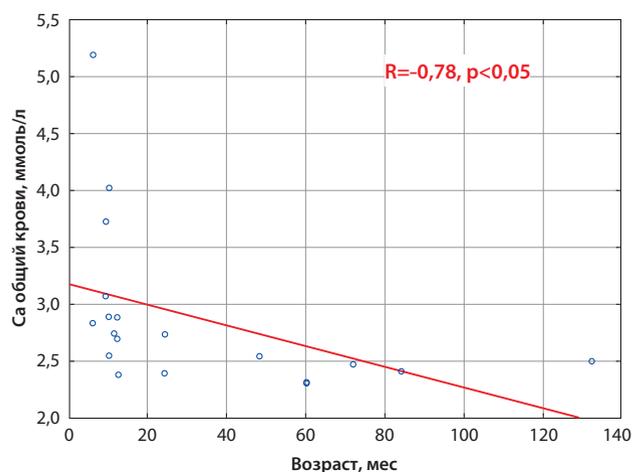


Рис. 1. Корреляционная связь между уровнем кальция крови и возрастом детей с идиопатической инфантильной гиперкальциемией, тип 1

Fig. 1. Correlation between serum calcium level and age of children with idiopathic infantile hypercalcemia, type 1

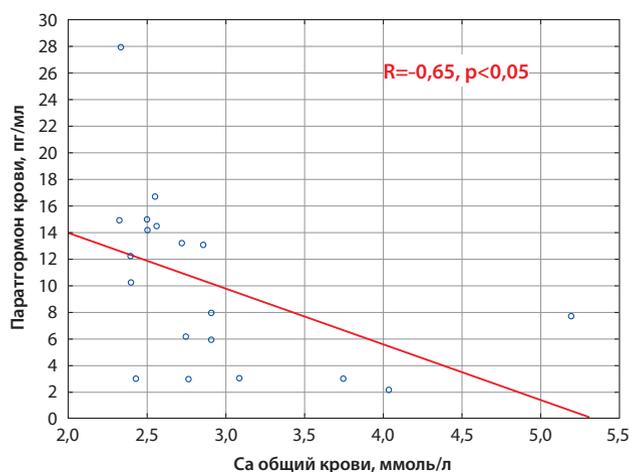


Рис. 3. Корреляционная связь между уровнями паратгормона и кальция крови у детей с идиопатической инфантильной гиперкальциемией, тип 1

Fig. 3. Correlation between serum levels of parathyroid hormone and calcium in children with idiopathic infantile hypercalcemia, type 1

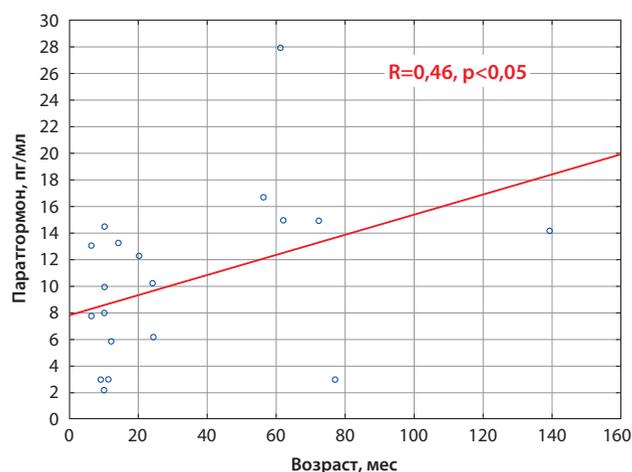


Рис. 2. Корреляционная связь между уровнем паратгормона в крови и возрастом детей с идиопатической инфантильной гиперкальциемией, тип 1

Fig. 2. Correlation between the level of parathyroid hormone and the age of children with idiopathic infantile hypercalcemia, type 1

следования в 30% (6/20) наблюдений. Витамин Д для профилактики рахита в анамнезе получали 75% детей (15/20) в дозе 1000 [1000; 1500] МЕ/сутки длительностью 8 [3; 9] месяцев. На момент первичного обследования никто из детей витамин Д не получал.

Гиперкальциемия различной степени выраженности была выявлена у 75% (15/20) детей, гиперкальциурия – у 60% (12/20) пациентов (Таблица 1). Снижение уровня ПТГ в крови на момент первичного обследования было зафиксировано в 90% (18/20) случаев. Уровень фосфора крови и мочи с расчетом ТмРФ/рСКФ исследовался у 85% (17/20) детей. Снижение уровня фосфора в сочетании со снижением ТмРФ/рСКФ было выявлено у 1 ре-

бенка из младшей возрастной группы – 8,3% (1/12) (№9). Уровни 25(ОН)Д и 1,25(ОН)<sub>2</sub>Д исследовались у 12 из 20 детей (60%), повышения данных метаболитов витамина Д не было зафиксировано ни у одного из пациентов. Медулярный нефрокальциноз 2-3 степени выявлялся при УЗИ почек у всех детей (100%) с ИИГ1. Уролитиаз имел место у 20% детей с ИИГ1.

Снижение рСКФ <60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> было выявлено в 15% (3/20) случаев. В общей группе детей с ИИГ1 установлена сильная обратная корреляционная связь между уровнем кальция крови и возрастом пациентов на период первичного обследования (Ca<sup>2+</sup> R=-0,71, p<0,05; Са общий R=-0,78, p<0,05) (Рисунок 1), умеренная прямая корреляционная связь между уровнем ПТГ в крови и возрастом пациентов (R=0,46, p<0,05) (Рисунок 2), а также умеренная обратная корреляционная связь уровней ПТГ и общего кальция крови (R=-0,65, p<0,05) (Рисунок 3).

Сравнительный анализ клиничко-лабораторных характеристик у детей с ИИГ1 в зависимости от возраста на момент обследования представлен в таблице 2. В группе пациентов, обследованных в возрасте до 24 месяцев уровень кальция крови как ионизированного, так и общего, был статистически значимо выше, чем у детей старшей возрастной группы: 1,39 [1,35; 1,56] ммоль/л против 1,31 [1,24; 1,34] ммоль/л (p=0,013) и 2,9 [2,71; 3,74] ммоль/л против 2,45 [2,36; 2,52] ммоль/л (p=0,001), соответственно, также как и частота выявления гиперкальциемии у детей младшего возраста по сравнению с детьми старше 24 месяцев (81,8% против 12,5%, p=0,005) (Рисунок 4). Отмечена тенденция к более высокой частоте выявления гиперкальциурии у детей старше 24 месяцев (62,5% против 27,3%, p=0,06) (Рисунок 5). Уровень ПТГ в крови у детей младше 24 ме-

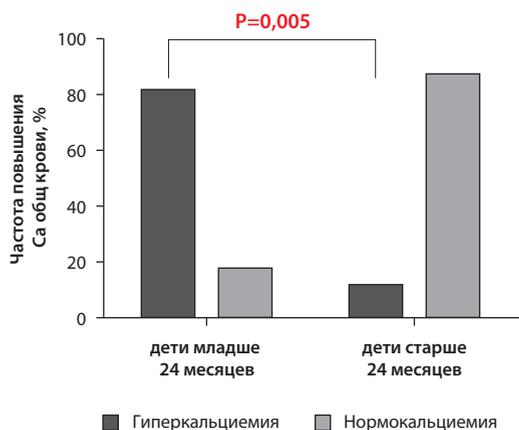


Рис. 4. Частота гиперкальциемии у детей с идиопатической инфантильной гиперкальциемией, тип 1 в зависимости от возраста

Fig. 4. The frequency of hypercalcemia in children with idiopathic infantile hypercalcemia, type 1, in relation to their age

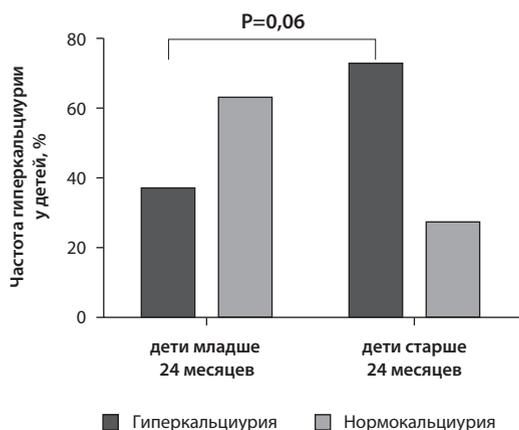


Рис. 5. Частота гиперкальциурии у детей с идиопатической инфантильной гиперкальциемией, тип 1 в зависимости от возраста

Fig. 5. The frequency of hypercalciuria in children with idiopathic infantile hypercalcemia, type 1, in relation to their age

сяцев был статистически значимо ниже, чем у детей старшей возрастной группы: 7,9 [3; 12,7] нг/мл против 14,6 [8,25; 15,85] нг/мл ( $p=0,038$ ) (Рисунок 6).

Частота выявления медуллярного нефрокальциноза 3 степени была сопоставима в исследуемых группах (25% в каждой из групп,  $p=1,0$ ) в то время, как длительность приема витамина Д с целью профилактики рахита была статистически значимо большей у детей старшей возрастной группы ( $p=0,01$ ) (Таблица 2). Отмечена тенденция к увеличению частоты выявления уролитиаза в старшей возрастной группе по сравнению с младшей группой пациентов: 37,5% против 8,3% ( $p=0,25$ ).

Снижение рСКФ  $<60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> было выявлено только у детей, обследованных до 24 месяцев

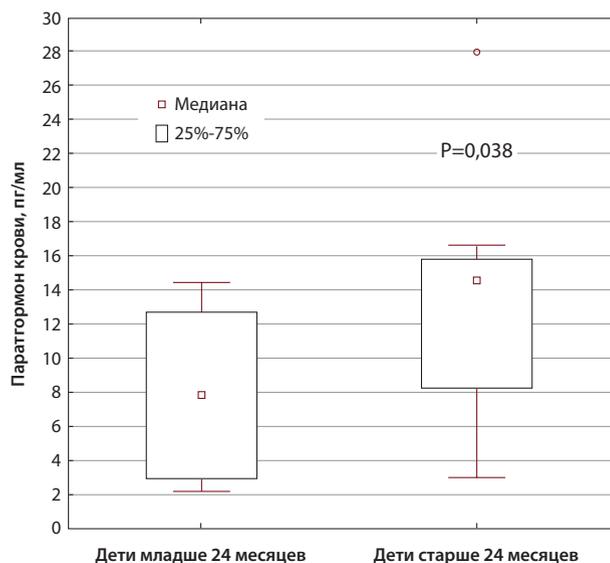


Рис. 6. Уровень паратгормона в крови у детей с идиопатической инфантильной гиперкальциемией, тип 1 в зависимости от возраста

Fig. 6. Parathyroid hormone serum level in children with idiopathic infantile hypercalcemia, type 1 in relation to their age

Таблица 2 | Table 2

Клиническая характеристика групп детей с ИИГ1 в зависимости от возраста

Clinical characteristics of children with IIN1 in relation to the age

Показатели	Дети <24 месяцев (n=12)	Дети ≥24 месяцев (n=8)	p
Возраст обследования, мес	10,0 [9,0; 11,5]	61,5 [40,0; 74,5]	0,00016
Пол, м:ж	7:5	2:6	0,19
Рост, перцентиль	25 [19; 87]	62 [37; 90]	0,4
Масса тела, перцентиль	17,5 [10; 75]	25 [10; 50]	0,96
Длительность приема витамина Д, мес	3 [1; 8]	10,5 [8; 24]	0,01
Доза витамина Д, МЕ/сут	1000 [500; 1500]	1000 [1000; 1500]	0,8
Причины обследования:			
Острый пиелонефрит, асимптоматическая лейкоцитурия, n (%)	6 (50%)	6 (50%)	1,0
Снижение аппетита, задержка физического развития, субфебрилитет, n (%)	4 (33,3%)	0	0,11
Скрининг УЗИ почек, n (%)	2 (16,7%)	4 (50%)	0,16

В таблице представлены значения медиан приведенных показателей и интерквартильный размах (ИКР) [25 и 75 перцентили].

Таблица 3 | Table 3

Результаты молекулярно-генетического исследования у детей с ИИГ1 ( $n=20$ )  
The data of molecular genetic studies in children with IIN1 ( $n=20$ )

№ пациента	Мутации (ДНК)	Мутации (протеин)	Экзон	Генотип	Патогенность
1	c.1186C>T	p.Arg396Trp	9	Компаунд-гетерозигота	Патогенная
	c.428_430delAAG	p.Glu143del	2		Патогенная
2	c.1186C>T	p.Arg396Trp	9	Гомозигота	Патогенная
3	c.1186C>T	p.Arg396Trp	9	Гомозигота	Патогенная
4	c.1186C>T	p.Arg396Trp	9	Компаунд-гетерозигота	Патогенная
	c.233G>T	p.Gly78Val <sup>1</sup>	1		Вероятно патогенная
5	c.1186C>T	p.Arg396Trp	9	Компаунд-гетерозигота	Патогенная
	c.428_430delAAG	p.Glu143del	2		Патогенная
6	c.475C>T	p.Arg159Trp	2	Компаунд-гетерозигота	Вероятно патогенная
	c.443T>C	p.Leu148Pro	2		Патогенная
7	c.1186C>T	p.Arg396Trp	9	Гомозигота	Патогенная
8	c.1508C>T	p.Pro503Leu	11	Компаунд-гетерозигота	Вероятно патогенная
	c.1187G>T	p.Arg396Gln <sup>1</sup>	9		Вероятно патогенная
9	c.428_430delAAG	p.Glu143del	2	Гомозигота	Патогенная
10	c.1186C>T	p.Arg396Trp	9	Компаунд-гетерозигота	Патогенная
	c.428_430delAAG	p.Glu143del	2		Патогенная
11	c.1396C>T	p.Arg466*	10	Гомозигота	Патогенная
12	c.400T>G	p.Trp134Gly	2	Компаунд-гетерозигота	Патогенная
	c.428_430delAAG	p.Glu143del	2		Патогенная
13	c.1186C>T	p.Arg396Trp	9	Гомозигота	Патогенная
14	c.296T>C	p.Met99Thr <sup>1</sup>	2	Компаунд-гетерозигота	Вероятно патогенная
	c.428_430delAAG	p.Glu143del	2		Патогенная
15	c.1186C>T	p.Arg396Trp	9	Компаунд-гетерозигота	Патогенная
	c.296T>C	p.Met99Thr <sup>1</sup>	2		Вероятно патогенная
16	c.1379G>T	p.Arg460Ile	10	Компаунд-гетерозигота	Вероятно патогенная
	c.1226T>C	p.Leu409Ser	9		Патогенная
17	c.428_430delAAG	p.Glu143del	2	Гомозигота	Патогенная
18	c.1156A>T	p.Arg386Trp	8	Компаунд-гетерозигота	Вероятно патогенная
	c.1286T>C	p.Phe429Ser	10		Патогенная
19	c.428_430delAAG	p.Glu143del	2	Гомозигота	Патогенная
20	c.443T>C	p.Leu148Pro	2	Компаунд-гетерозигота	Патогенная
	c.1410dupT	p.Gln471Sfs*21	10		Вероятно патогенная

<sup>1</sup> – новая мутация

в 3/12 (25%) случаев. У детей младшей возрастной группы выявлена тенденция к более низкой рСКФ, чем у детей старшей возрастной группы: 72,2 [59,6; 92,5] мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> против 84,6 [75,45; 95,4] мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> ( $p=0,18$ ).

В исследуемой когорте пациентов по результатам молекулярно-генетического обследования были выявлены различные типы мутаций в гене *CYP24A1*: миссенс-варианты (78,7%), делеции (7,1%), нонсенс-варианты (7,1%) и дупликации (7,1%). Наиболее частыми *CYP24A1* мутациями были p.Arg396Trp, которая встречалась у 55% ( $n=11$ ) пациентов, в 20% ( $n=4$ ) случаев в гомозиготном состоянии, и p.Glu143del, которая была выявлена у 40% ( $n=8$ ) пациентов, в 15% ( $n=3$ ) случаев в гомозиготном состоянии. У 15% ( $n=3$ ) детей идентифицирована компаунд-гетерози-

готная *CYP24A1* мутация p.Arg396Trp и p.Glu143del. Было выявлено 4 ранее не описанных варианта с неизвестным клиническим значением: p.Gly78Val, p.Arg396Gln, p.Met99Thr, p.Gln471Sfs\*21 (Таблица 3).

Учитывая возрастные особенности течения заболевания, поиск генотип-фенотипических ассоциаций проводился внутри группы детей младше 24 месяцев между пациентами с миссенс-мутацией p.Arg396Trp ( $n=4$ , все в гомозиготном состоянии) и делецией p.Glu143del ( $n=4$ , два в гомозиготном, два в компаунд-гетерозиготном состоянии). У пациентов с делецией p.Glu143del отмечена тенденция к более высокому уровню кальция крови (как ионизированного, так и общего) и более низкому уровню ПТГ в крови, чем у детей с миссенс-мутацией p.Arg396Trp (Таблица 4).

Таблица 4 | Table 4

Клиническая характеристика детей с ИИГ1 в зависимости от типа мутации в гене *CYP24A1*  
 Clinical characteristics of children with IHH1 in relation to the type of mutations in the gene *CYP24A1*

Показатель	Пациенты с с миссенс-мутацией p.Arg396Trp в гене <i>CYP24A1</i> (n=4)	Пациенты с с делецией p.Glu143del в гене <i>CYP24A1</i> (n=4)	p
Возраст, мес	12 [10; 17]	7,5 [6; 9,5]	0,057
Пол, м:д	2:2	3:1	0,8
Ca <sup>2+</sup> , ммоль/л	1,4 [1,35; 1,49]	1,75 [1,5; 2,29]	0,11
Ca общий, ммоль/л	2,63 [2,47; 2,9]	3,55 [2,96; 4,61]	0,11
ПТГ, пг/мл	12,8 [11,15; 13,9]	5,4 [2,6; 10,45]	0,11
pСКФ, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	65,8 [59,2; 83,9]	75,11 [52,2; 95,5]	0,68

В таблице представлены значения медиан приведенных показателей и интерквартильный размах (ИКР) [25 и 75 перцентили].

### Обсуждение результатов

В настоящем исследовании впервые представлена клиничко-лабораторная и генетическая характеристика российской когорты детей с нарушением метаболизма витамина Д вследствие мутаций в гене *CYP24A1*. Установлена широкая вариабельность проявлений ИИГ1 в зависимости от возраста пациентов на момент первичного обследования.

Преобладающими клиничко-лабораторными проявлениями ИИГ1 являлись двусторонний медулярный нефрокальциноз 2-3 степени, низкий уровень ПТГ в крови, гиперкальциемия и гиперкальциурия. Полученные результаты проведенного исследования несколько отличаются от данных исследования Molin A. с соавт. [5], в котором только у половины пациентов выявлялся медулярный нефрокальциноз, а наиболее частыми проявлениями были гиперкальциемия и снижение ПТГ в крови, что может быть следствием особенностей дизайна исследования, в соответствии с которым, определяющим критерием включения было наличие у пациентов гиперкальциемии и низкого уровня ПТГ в крови.

Термин «идиопатическая инфантильная гиперкальциемия» предполагает, что гиперкальциемия является облигатным проявлением заболевания в неонатальном периоде, что подтверждается данными систематического обзора Carpellani D. с соавт. [7], в котором гиперкальциемия была выявлена у 76% детей первого года жизни. Результаты представленного нами исследования подтверждают наличие взаимосвязи степени выраженности и частоты выявления гиперкальциемии от возраста детей: у пациентов, обследованных в возрасте младше 24 месяцев, уровень кальция крови и частота выявления гиперкальциемии были статистически значимо выше, чем у детей старшей возрастной группы. Аналогичные результаты наличия обратной зависимости между возрастом пациентов и степенью выраженности гиперкальциемии были получены Gurevich E. с соавт. [32] при обследовании гетерогенной группы детей с гиперкальциемией. Однако накапливается все больше литературных данных о наличии гиперкаль-

циемии различной степени выраженности на протяжении всей жизни пациентов с ИИГ1, а особого внимания заслуживают женщины с ИИГ1 в период беременности в связи с резким повышением уровня кальция крови [7-9, 33, 34].

Результаты данного исследования демонстрируют, что низкий уровень ПТГ в крови является вторым по частоте проявлением ИИГ1 в российской когорте детей, а степень снижения ПТГ находится в прямой зависимости от возраста пациентов и обратной зависимости от уровня кальция крови, что соотносится с проведенным ранее исследованием Colussi G. с соавт. [33]. В обследованной нами когорте у пяти пациентов старше 24 месяцев (№№ 4, 15, 16, 18, 19) со сниженным уровнем ПТГ кальций крови был в пределах референсных значений, что указывает на диагностическую значимость ПТГ у пациентов с ИИГ1, особенно в старшем возрасте. Аналогичные данные представлены в клинических наблюдениях за взрослыми пациентами с ИИГ1 [8, 9, 35]. Снижение скорости инактивации 1,25(OH)<sub>2</sub>D, вызванное дефектом синтеза 24-гидроксилазы, приводит к накоплению активных форм витамина Д и увеличению абсорбции кальция из кишечника, способствуя гиперкальциемии, которая, в свою очередь, подавляет секрецию ПТГ через рецептор витамина Д и кальций-чувствительный рецептор в клетках паращитовидной железы [4]. Существует взаимосвязь между СКФ и уровнем кальция крови. У детей младшего возраста фильтрационная функция почек по отношению к массе тела физиологически ниже, чем у детей более старшего возраста, что подтверждается и результатами нашего исследования, в котором pСКФ была ниже у детей младшего возраста по сравнению со старшей группой. Это, по мнению ряда авторов, способствует более низкому клиренсу через почки абсорбированного из кишечника кальция в раннем возрасте и может частично объяснять снижение выраженности гиперкальциемии по мере взросления [4, 36]. При этом сохранение сниженного уровня ПТГ при нормальном уровне кальция крови у пациентов с ИИГ1 может свидетельствовать о сохранении транзиторной гиперкальциемии.

По результатам проведенного исследования гиперкальциурия у детей с ИИГ1 была зарегистрирована в 60% случаев, тогда как по данным ранее проведенного исследования Molin A. с соавт., гиперкальциурия выявлялась лишь у трети пациентов (35%) [5]. Столь значимое различие в результатах исследований может объясняться тем, что в исследовании Molin A. с соавт. экскреция кальция определялась в разовой утренней порции мочи по соотношению уровня кальция к креатинину мочи, тогда как в нашем исследовании у большинства пациентов проводилось биохимическое исследование в разовой порции и в суточном анализе мочи, и частота выявления повышенной экскреции кальция (по отношению к массе тела) была выше при исследовании суточного анализа (58,8% против 30%,  $p=0,1$ ). Выявленная в нашем исследовании тенденция к более высокой частоте обнаружения гиперкальциурии у детей старше 24 месяцев, также может быть связана с ускоренным клиренсом кальция у детей более старшего возраста за счет повышения фильтрационной функции почек [33, 36].

До настоящего времени противоречивыми остаются данные об уровне фосфора крови у пациентов с ИИГ1. Отдельные клинические наблюдения демонстрируют развитие гипофосфатемии вследствие нарушения реабсорбции фосфатов с мочой и значительное повышение уровня фактора роста фибробластов 23 (ФРФ 23) [9, 11]. Патогенетический механизм развития гипофосфатемии у данной категории пациентов обусловлен стимуляцией секреции ФРФ 23 за счет персистирующего высокого уровня  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  и вторичного снижения ПТГ в крови. Высокий уровень ФРФ 23 способствует снижению реабсорбции фосфатов через натрий-фосфорные ко-транспортеры в проксимальном отделе нефрона с развитием гиперфосфатурии и, как следствие, гипофосфатемии [9]. В исследовании Azer S.M. с соавт., напротив, сообщается о более высоком уровне фосфора крови у пациентов с ИИГ1 по сравнению с группой с гиперкальциемией другой этиологии, что, по мнению авторов, может быть следствием длительной персистенции повышенного уровня  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ , стимулирующего усиленное всасывание фосфатов в кишечнике [37]. В представленном исследовании не наблюдалось повышение уровня фосфора ни у одного из пациентов. Гипофосфатемия, в сочетании со снижением максимальной реабсорбции фосфатов, наблюдалась у одного пациента (№9), у которого кроме мутации в гене *CYP24A1* p.Glu143del в гомозиготном состоянии, была идентифицирована мутация в гене натрий-фосфорного ко-транспортера *NaPi2a SLC34A1* p.Ser563fs в гетерозиготном состоянии, что может объяснять развитие гипофосфатемии у данного пациента. Учитывая то, что по данным литературы гипофосфатемия была зафиксирована у взрослых пациентов с ИИГ1, а указаний на наличие гипофос-

фатемии в детском возрасте нет, необходимо продолжить исследования о взаимосвязи влияния активных метаболитов витамина Д на секрецию ФРФ 23 и состояние фосфорного обмена в проспективных исследованиях у пациентов с ИИГ1.

Основным ограничением данного исследования явилось отсутствие возможности определения активных метаболитов витамина Д, в частности продукт инактивации  $25(\text{OH})\text{D} - 24,25(\text{OH})_2\text{D}$  и их соотношение ( $25(\text{OH})\text{D}:24,25(\text{OH})_2\text{D}$ ), которое имеет диагностическое значение при ИИГ1. Для пациентов с ИИГ1 характерно снижение уровня  $24,25(\text{OH})_2\text{D}$  в крови вплоть до неопределяемых значений и повышение соотношения  $25(\text{OH})\text{D}:24,25(\text{OH})_2\text{D}$  более 80 [5]. В представленном исследовании определение уровня  $25(\text{OH})\text{D}$  и  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  в крови проведено более чем у половины пациентов, при этом повышения уровней данных метаболитов витамина Д не было зафиксировано ни у одного из детей. Это соотносится с отдельными клиническими описаниями, где у пациентов с ИИГ1 уровни  $25(\text{OH})\text{D}$  и  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  в крови были в пределах нормы, что может объясняться повышением  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  на тканевом уровне вне зависимости от уровня данного показателя в крови [4, 38]. Кроме того, представляют интерес гипотезы о подавлении конвертации витамина Д3 в  $25(\text{OH})\text{D}$  в печени с помощью *CYP2R1* (25-гидроксилазы) и супрессорном влиянии сниженного уровня ПТГ в крови на функцию *CYP27B1* (альфа1-гидроксилазы), ограничивая повышение уровня активного  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  в крови [9, 39]. Однако механизмы регуляции активности 25-гидроксилазы остаются неизученными до настоящего времени.

По результатам представленного исследования медуллярный нефрокальциноз 2-3 степени выявлялся у всех детей с ИИГ1 вне зависимости от возраста, доз и длительности приема витамина Д для профилактики рахита в анамнезе. В соответствии с предположением ряда авторов, существует взаимосвязь между длительностью приема профилактических доз витамина Д и частотой выявления, а также степенью выраженности нефрокальциноза [4, 40]. По нашим данным в группе детей старше 24 месяцев длительность приема витамина Д была статистически значимо дольше, а частота выявления медуллярного нефрокальциноза 3 степени была аналогичной с группой детей младшего возраста. По данным исследования Azer S.M. с соавт., частота выявления нефрокальциноза у больных с ИИГ1 составляла 88,9%, что было статистически значимо чаще, чем у пациентов с гиперкальциемией другой этиологии [37]. Аналогичные данные представлены в систематическом обзоре Cappellani D. с соавт. – частота выявления нефрокальциноза у пациентов младше 18 лет составила 89,4%, тогда как у взрослых пациентов с ИИГ1 нефрокальциноз выявлялся в 43,3% случаев [7]. По результатам нашего исследования наблюдалась обратная тенденция в частоте

выявления уролитиаза в разных возрастных группах детей с ИИГ1 – у детей старше 24 месяцев уролитиаз выявлялся чаще, чем в младшей группе. В систематическом обзоре Carpellani D. с соавт., частота выявления уролитиаза приближается к 90% у детей и взрослых с ИИГ1 [7]. По данным исследования Nesterova G. с соавт., от 4% до 20% детей с уролитиазом являются носителями биналельных мутаций в гене *CYP24A1* [41].

Анализ результатов молекулярно-генетических исследований показал, что в исследуемой нами когорте российских детей с ИИГ1 наиболее часто выявляемыми мутациями в гене *CYP24A1* явились p.Arg396Trp и p.Glu143del, что соотносится с результатами исследований в европейской когорте пациентов, где наблюдается небольшой спектр выявляемых мутаций и «горячими точками» в гене *CYP24A1* являются p.Glu143del, p.Arg396Trp и p.Leu409Ser [7]. Частота выявления всех трех мутаций, опираясь на общедоступные базы данных секвенирования экзона и генома (Exom Aggregation Consortium (ExAC) и Genome Aggregation Database (gnomAD), в сумме составляет 0,35%, что означает, что 0,7% населения Европы (около 5 миллионов европейцев) являются гетерозиготными носителями одного из трех мутантных аллелей в гене *CYP24A1* [42]. В данном исследовании мутация p.Leu409Ser встречалась в компаунд-гетерозиготном состоянии только у одного пациента (№16), что не позволяет отнести ее к «горячим точкам» российской когорты пациентов.

До настоящего времени отсутствуют литературные данные о наличии генотип-фенотипических ассоциаций у пациентов с ИИГ1. Трудности в поиске данных ассоциаций связаны с необходимостью сопоставления клинических данных у пациентов с различными мутациями в гене *CYP24A1* в одном возрастном промежутке, что подтверждается результатами нашего исследования, демонстрирующими зависимость частоты тех или иных клинических проявлений от возраста пациентов. В ходе представленного исследования проводилось сопоставление фенотипов пациентов в возрасте до 24 месяцев с генотипами p.Arg396Trp и p.Glu143del. У пациентов с делецией p.Glu143del уровень кальция крови как ионизированного, так и общего был выше, а снижение ПТГ было более значимым, чем у детей с миссенс-мутацией p.Arg396Trp, однако статистической значимости получено не было, что может быть обусловлено малочисленностью группы, а также тем, что пациенты с делецией p.Glu143del были более младшего возраста.

### Заключение

Представленные данные являются результатами первого в России исследования по поиску возрастных особенностей течения ИИГ1 и генотип-фенотипических ассоциаций у детей.

Степень выраженности и частота выявления основных клинико-лабораторных проявлений ИИГ1 зависит от возраста пациентов, что необходимо учитывать в дифференциально-диагностическом поиске у детей с нефрокальцинозом/уролитиазом. Российская когорта пациентов с ИИГ1 имеет 2 однотипные с европейской когортой «горячие точки» в гене *CYP24A1*. Пациенты с делецией p.Glu143del демонстрируют более выраженную гиперкальциемию и более значимое снижение ПТГ в крови в раннем возрасте.

Повышение осведомленности об особенностях течения ИИГ1 в детском возрасте способствует увеличению клинической настороженности специалистов в отношении данной патологии у пациентов с нефрокальцинозом/уролитиазом, гиперкальциемией, низким уровнем ПТГ в крови или гиперкальциурией. Молекулярно-генетическое тестирование на мутации в гене *CYP24A1* направлено на раннюю верификацию заболевания с целью определения тактики ведения пациентов с минимизацией потребления витамина Д для предотвращения последствий токсичности витамина Д и рекомендациями по питанию и образу жизни.

*Авторы не имеют конфликта интересов.*

*The authors declare no conflict of interest.*

*Вклад авторов: СВП, АСП – концепция и дизайн исследования, СВП – статистическая обработка данных, написание исходного варианта текста рукописи, МВШ, СВП – сбор и обработка клинических данных, АНТ – проведение генетических исследований, написание исходного варианта текста рукописи, АСП – окончательное редактирование текста рукописи.*

*Authors contribution: SVP, LSP – study concept and design, SVP – statistical data processing, writing the original version of the manuscript, MVSh, SVP – data collection and analysis, ANT – genetic research, writing the original version of the manuscript, LSP – final editing of the text of the manuscript.*

### Авторы:

Светлана Валентиновна Папиж,  
e-mail: papijsveta@mail.ru,  
ORCID: 0000-0001-6459-2795

Марина Владимировна Шумихина,  
e-mail: marina.shumikhina@gmail.com,  
ORCID: 0000-0002-1974-8241

Анатолий Николаевич Тюльпаков,  
e-mail: anatolytiulpakov@gmail.com,  
ORCID: 0000-0001-8500-4841

Лариса Серафимовна Приходина,  
e-mail: prikhodina@rambler.ru,  
ORCID: 0000-0002-0702-4932

**Authors:**

*Svetlana V. Papizh,*  
*e-mail: papijsveta@mail.ru,*  
*ORCID: 0000-0001-6459-2795*  
*Marina Shumikhina,*  
*e-mail: marina.shumikhina@gmail.com,*  
*ORCID: 0000-0002-1974-8241*  
*Anatoly Tiulpakov,*  
*e-mail: anatologytiulpakov@gmail.com,*  
*ORCID: 0000-0001-8500-4841*  
*Larisa Prikhodina,*  
*e-mail: prikhodina@rambler.ru,*  
*ORCID: 0000-0002-0702-4932*

**Список литературы**

1. *Lightwood R., Stapleton T.* Idiopathic hypercalcaemia in infants. *Lancet.* 1953. 1; 265(6779):255-6. doi: 10.1016/s0140-6736(53)90187-1
2. *Fanconi G.* Chronic disorders of calcium and phosphate metabolism in children. *Schweiz Med Wochenschr.* 1951. 81(38):908-13.
3. *Misselwitz J., Hesse V., Markestad T.* Nephrocalcinosis, hypercalciuria and elevated serum levels of 1,25-dihydroxyvitamin D in children. Possible link to vitamin D toxicity. *Acta Paediatr Scand.* 1990. 79(6-7):637-643. doi: 10.1111/j.1651-2227.1990.tb11528.x
4. *Schlingmann K.P., Kaufmann M., Weber S. et al.* Mutations in CYP24A1 and idiopathic infantile hypercalcemia. *N Engl J Med.* 2011. 365(5):410-421. doi: 10.1056/NEJMoa1103864
5. *Molin A., Baudoin R., Kaufmann M. et al.* CYP24A1 Mutations in a Cohort of Hypercalcemic Patients: Evidence for a Recessive Trait. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015. 100(10):1343-52. doi: 10.1210/jc.2014-4387
6. *Pronicka E., Ciara E., Halat P. et al.* Biallelic mutations in CYP24A1 or SLC34A1 as a cause of infantile idiopathic hypercalcemia (IIH) with vitamin D hypersensitivity: molecular study of 11 historical IIH cases. *J Appl Genet.* 2017. 58(3):349-353. doi: 10.1007/s13353-017-0397-2
7. *Cappellani D., Brancatella A., Morganti R. et al.* Hypercalcemia due to CYP24A1 mutations: a systematic descriptive review. *Eur J Endocrinol.* 2021. 186(2):137-149. doi: 10.1530/EJE-21-0713
8. *Pilz S., Theiler-Schwetz V., Pludowski P. et al.* Hypercalcemia in Pregnancy Due to CYP24A1 Mutations: Case Report and Review of the Literature. *Nutrients.* 2022. 14(12):2518. doi: 10.3390/nu14122518
9. *Meusburger E., Miindlein A., Zitt E. et al.* Medullary nephrocalcinosis in an adult patient with idiopathic infantile hypercalcaemia and a novel CYP24A1 mutation. *Clin Kidney J.* 2013. 6(2):211-215. doi: 10.1093/ckj/sft008
10. *Skalova S., Cerna L., Bayer M. et al.* Intravenous pamidronate in the treatment of severe idiopathic infantile hypercalcemia. *Iran J Kidney Dis.* 2013. 7(2):160-164. PMID: 23485543
11. *Tebben P.J., Milliner D.S., Horst R.L. et al.* Hypercalcemia, hypercalciuria, and elevated calcitriol concentrations with autosomal dominant transmission due to CYP24A1 mutations: effects of ketoconazole therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012. 97(3):423-427. doi: 10.1210/jc.2011-1935
12. *Kaufmann M., Gallagher J.C., Peacock M. et al.* Clinical utility of simultaneous quantitation of 25-hydroxyvitamin D and 24,25-dihydroxyvitamin D by LC-MS/MS involving derivatization with DMEQ-TAD. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014. 99(7):2567-2574. doi: 10.1210/jc.2013-4388
13. *Тихонович Ю.В., Колодкина А.А., Куликова К.С. и др.* Идиопатическая гиперкальциемия детей грудного возраста. Описание клинических случаев, обзор литературы. Проблемы эндокринологии. 2017. 63(1):51-57. doi: 10.14341/probl201763151-57
14. *Tikhonovich Y.V., Kolodkina A.A., Kulikova K.S. et al.* Idiopathic infantile hypercalcemia. Clinical cases and review. *Problems of Endocrinology.* 2017. 63(1):51-57. doi: 10.14341/probl201763151-57
15. *Садькова Д.И., Макарова Т.П., Шакирова А.Р. и др.* Идиопатическая инфантильная гиперкальциемия: семейный случай. Фарматека. 2022. 29(1):96-99. doi: https://dx.doi.org/10.18565/pharmateca.2022.1.96-99
16. *Sadykova D.I., Makarova T.P., Shakirova A.R. et al.* Idiopaticeskaya infantilnaya giperkalcemiya: semejny sluchaj. *Farmateka.* 2022. 29(1):96-99. doi: https://dx.doi.org/10.18565/pharmateca.2022.1.96-99
17. *Рожинская А.Я., Пушкарева А.С., Мамедова Е.О. и др.* Паратгормон-независимая гиперкальциемия и гиперкальциурия у пациента с нефролитиазом и нефрокальцинозом, обусловленные нарушением метаболизма витамина D вследствие дефекта гена CYP24A1. Остеопороз и остеопатии. 2021. 24(1):26-33. https://doi.org/10.14341/osteo12920
18. *Rozhinskaya L.Y., Pushkareva A.S., Mamedova E.O. et al.* Parathyroid hormone-independent hypercalcemia and hypercalciuria of a patient with nephrolithiasis and nephrocalcinosis and impaired vitamin D metabolism due to a defect in the CYP24A1 gene. *Osteoporosis and Bone Diseases.* 2021. 24(1):26-33. (In Russ.) https://doi.org/10.14341/osteo12920
19. *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(2):252-7. doi: 10.1016/s0022-3476(97)70162-8
20. *De Santo N.G., Di Iorio B., Capasso G. et al.* Population based data on urinary excretion of calcium, magnesium, oxalate, phosphate and uric acid in children from Cimitile (southern Italy). *Pediatr Nephrol.* 1992. 6(2):149-57. doi: 10.1007/BF00866297
21. *Prie D., Ravery V., Boccon-Gibod L. et al.* Frequency of renal phosphate leak among patients with calcium nephrolithiasis. *Kidney Int.* 2001. 60(1):272-6. doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.00796.x
22. *Lockitch G., Halstead A.C., Albersheim S. et al.* Age- and sex-specific pediatric reference intervals for biochemistry analytes as measured with the Ektachem-700 analyzer. *Clin Chem.* 1988. 34:1622-5. PMID: 3402068
23. *Payne R.B.* Renal tubular reabsorption of phosphate (TmP/GFR): indications and interpretation. *Ann Clin Biochem.* 1998. 35(Pt2):201-6. doi: 10.1177/000456329803500203
24. *Manghat P., Sodi R., Swaminathan R.* Phosphate homeostasis and disorders. *Ann Clin Biochem.* 2014. 51(Pt 6):631-56.

doi: 10.1177/0004563214521399

22. *Schwartz G.J., Work D.F.* Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009. 4(11):1832-643. doi: 10.2215/CJN.01640309

23. *Hoppe B., Kemper M.J.* Diagnostic examination of the child with urolithiasis or nephrocalcinosis. *Pediatr Nephrol.* 2010. 25(3):403-413. doi: 10.1007/s00467-008-1073-x

24. *Dick P.T., Shuckett B.M., Tang B. et al.* Observer reliability in grading nephrocalcinosis on ultrasound examinations in children. *Pediatr Radiol.* 1999. 29(1):68-72. doi: 10.1007/s002470050539

25. *Adzhubei I.A., Schmidt S., Peishkin L. et al.* A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat. Methods* 2010. 7(4):248-249. doi: 10.1038/nmeth0410-248

26. *Ng P.C., Henikoff S.* Predicting deleterious amino acid substitutions. *Genome Res.* 2001. 11(5):863-874. doi: 10.1101/gr.176601

27. *Stenson P.D., Ball E.V., Mort M. et al.* Human Gene Mutation Database (HGMD®): 2003 update. *Hum. Mutat.* 2003. 21(6):577-581. doi: 10.1002/humu.10212

28. *Landrum M.J., Lee J.M., Benson M. et al.* ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants. *Nucleic Acids Res.* 2016. 44(1):862-868. doi: 10.1093/nar/gkv1222

29. *Aziz N., Bale S., Bick D. et al.* Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.* 2015; 17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30

30. *Рыжкова О.П., Кардымон О.А., Прохорчук Е.Б. и др.* Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2). Медицинская генетика. 2019. 18(2):3-23. doi:10.25557/2073-7998.2019.02.3-23

*Рыжкова О.П., Кардымон О.А., Прохорчук Е.Б. et al.* Rukovodstvo po interpretacii dannyh posledovatelnosti DNK cheloveka, poluchennyh metodami massovogo parallelnogo sekvenirovaniya (MPS) (redakciya 2018, versiya 2). Medicinskaya genetika. 2019. 18(2):3-23. doi:10.25557/2073-7998.2019.02.3-23

31. *Wang K., Li M., Hakonarson H.* ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res.* 2010. 38(16):164. doi: 10.1093/nar/gkq603

32. *Gurevich E., Levi S., Borovitz Y. et al.* Childhood Hypercalcemic Hypercalcemia With Elevated Vitamin D and Suppressed Parathyroid Hormone: Long-Term Follow Up. *Front Pediatr.* 2021. 9:752312. doi: 10.3389/fped.2021.752312

33. *Colussi G., Ganon L., Penco S. et al.* Chronic hypercalcemia from inactivating mutations of vitamin D 24-hydroxylase (CYP24A1): implications for mineral metabolism changes in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 2014. 29(3):636-643. doi: 10.1093/ndt/gft460

34. *Dinour D., Beckerman P., Ganon L. et al.* Loss-of-function mutations of CYP24A1, the vitamin D 24-hydroxylase gene, cause long-standing hypercalcemic nephrolithiasis and nephrocalcinosis. *J Urol.* 2013. 190(2):552-557. doi: 10.1016/j.juro.2013.02.3188

35. *Jobst-Schwan T., Pannes A., Schlingmann K.P. et al.* Discordant Clinical Course of Vitamin-D-Hydroxylase (CYP24A1) Associated Hypercalcemia in Two Adult Brothers With Nephrocalcinosis. *Kidney Blood Press Res.* 2015. 40(5):443-51. doi: 10.1159/000368520

36. *Quigley R.* Developmental changes in renal function. *Curr Opin Pediatr.* 2012. 24(2):184-90. doi: 10.1097/MOP.0b013e32834fe863

37. *Azer S.M., Vaughan L.E., Tebben P.J. et al.* 24-Hydroxylase Deficiency Due to CYP24A1 Sequence Variants: Comparison With Other Vitamin D-mediated Hypercalcemia Disorders. *J Endocr Soc.* 2021. 5(9):bvab119. doi: 10.1210/endo/bvab119

38. *Dauber A., Nguyen T.T., Sochett E. et al.* Genetic defect in CYP24A1, the vitamin D 24-hydroxylase gene, in a patient with severe infantile hypercalcemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012. 97(2):268-74. doi: 10.1210/jc.2011-1972

39. *Brenza H.L., DeLuca H.F.* Regulation of 25-hydroxyvitamin D3 1alpha-hydroxylase gene expression by parathyroid hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Arch Biochem Biophys.* 2000. 381(1):143-52. doi: 10.1006/abbi.2000.1970

40. *Castanet M., Mallet E., Kottler M.L.* Lightwood syndrome revisited with a novel mutation in CYP24 and vitamin D supplement recommendations. *J Pediatr.* 2013. 163(4):1208-10. doi: 10.1016/j.jpeds.2013.04.056

41. *Nesterova G., Malicdan MC, Yasuda K. et al.* 1,25-(OH)2D-24 Hydroxylase (CYP24A1) Deficiency as a Cause of Nephrolithiasis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013. 8(4):649-57. doi: 10.2215/CJN.05360512

42. *Schlingmann K.P.* Vitamin D-dependent Hypercalcemia. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2021. 50(4):729-742. doi: 10.1016/j.ecl.2021.08.005

Дата получения статьи: 03.10.2022

Дата принятия к печати: 14.12.2022

Submitted: 03.10.2022

Accepted: 14.12.2022