

Клинические, гормонально-биохимические и молекулярно-генетические характеристики 75 пациентов с гипофосфатемическим рахитом

К.С. КУЛИКОВА¹, к.м.н. А.А. КОЛОДКИНА¹, к.м.н. Е.В. ВАСИЛЬЕВ¹, к.х.н. В.М. ПЕТРОВ¹, Е.Н. ГОРБАЧ², к.б.н. Ф.Ф. ГОФМАН², А.Я. КОРКИН², к.м.н. М.А. ПЕТРОВ³, д.м.н. В.М. КЕНИС⁴, д.м.н. А.Н. ТЮЛЬПАКОВ¹

¹ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия; ²ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган, Россия; ³ГБУЗ «Морозовская детская городская клиническая больница» Департамента здравоохранения Москвы, Москва, Россия; ⁴ФГБУ «Научно-исследовательский детский ортопедический институт им. Г.И. Турнера» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования — выявление генетической причины гипофосфатемического рахита (ГФР), а также оценка клинических, гормонально-биохимических характеристик этого заболевания.

Материал и методы. Обследованы 75 пациентов (38 женщин и 37 мужчин в возрасте от 3 мес до 57 лет) с клиническими и рентгенологическими признаками рахита, низким уровнем фосфора в крови и низким показателем тубулярной реабсорбции фосфора. Молекулярно-генетический анализ проводился методом высокопроизводительного параллельного секвенирования с использованием панели Custom Ion ampliseq («Life Technologies», США), включавший праймеры для мультиплексной амплификации 22 генов, ассоциированных с наследственными нарушениями фосфорно-кальциевого обмена. Найденные миссенс-мутации аннотировались с помощью программ TorrentSuite (Ion Torrent) и ANNOVAR.

Результаты. Семейная форма ГФР диагностирована у 36 пациентов, спорадический характер патологии — у 39 probандов. Наиболее распространенными симптомами заболевания являлись деформации нижних конечностей с момента начала ходьбы (94,5%), гипотония на первом году жизни (70,2%), множественный кариес (58%). У 68 пациентов (90,5%) были обнаружены дефекты в гене *PHEX*, в том числе 40 новых. При семейной форме патологии мутации выявлены в 100% случаев, при спорадической — в 82%. У одного пациента дефект гена *PHEX* сочетался с гетерозиготной мутацией в *DMP1*. В других генах-кандидатах (*FGF23*, *ENPP1*, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*, *SLC2A2*, *KL*) мутаций не выявлено.

Выводы. Основной причиной ГФР являются инактивирующие мутации гена *PHEX*. Определение этиологического фактора имеет большое значение для пренатальной диагностики при семейных формах ГФР и своевременного начала консервативного лечения.

Ключевые слова: рахит, гиперфосфатурия, гипофосфатемия, фосфотонин, *PHEX*, *FGF23*, деформации костей, абсцессы зубов, мышечная слабость, высокопроизводительное параллельное секвенирование.

Clinical, hormonal, biochemical and genetic characteristics of 75 patients with hypophosphatemic rickets

K.S. KULIKOVA¹, A.A. KOLODKINA¹, E.V. VASILIEV¹, V.M. PETROV¹, E.N. GORBACH², F.F. GOFMAN², A.YA. KORKIN², M.A. PETROV³, V.M. KENIS⁴, A.N. TIULPAKOV¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia; ²Russian G.A. Ilizarov Scientific Centre for Restorative Traumatology and Orthopaedics, Kurgan, Russia; ³V. Morozov Pediatric Clinical Hospital, Moscow, Russia; ⁴The Turner Scientific Research Institute for Children's Orthopedics, Saint-Petersburg, Russia

Aim — the present research was aimed at identifying the genetic causes for hr in patients, as well as evaluating the clinical, hormonal and biochemical characteristics of the disease in this group of patients.

Material and methods. 75 patients (aged, of 3 months to 57 years; females, n=38; males, n=37) with clinical and radiological findings of rickets, low serum phosphate and low tubular reabsorption of phosphate were included. 'rickets panel' genes were sequenced using a custom Ion Ampliseq gene panel and PGM semiconductor sequencer (Ion Torrent). The panel included primers for multiplex amplification of 22 genes associated with genetic calcium metabolism dysfunctions. Bioinformatic analysis was performed using torrent suite (Ion Torrent) and ANNOVAR software packages.

Results. Out of the 75 patients 36 were diagnosed with familial form of hr, and 39 probands had sporadic cases. Out clinical characteristics the most widespread symptoms of the disease included: lower limbs malformations since the patients started to walk (94.5%), hypotonia in the first 12 months of life (70.2%), multiple caries (58%). Mutations were identified in 100% of familial and 88,5% of sporadic cases. In 68 probands (90,5%) mutations were detected in *PHEX*, 40 of which were novel. For familial forms of the disease mutations were discovered in 100% cases, for sporadic — in 82% cases. One subject had both *DMP1* and *PHEX* mutations. No mutations were detected in *FGF23*, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*, *ENPP1*, *CLIC1N5* and *SLC2A2* genes.

Conclusion. The study confirmed predominance of *PHEX* mutations among the patients with HR. The identification of causative agent is very important for antenatal diagnostics for familial forms of disease and enables well-timed conservative treatment.

Keywords: rickets, hyperphosphaturia, hypophosphatemia, phosphatonin, *PHEX*, *FGF23*, bone deformities, dental abscess, muscle weakness, the targeted next-generation sequencing.

doi: 10.14341/probl201662231-36

Гипофосфатемический рахит (ГФР), или витамин-D-резистентный рахит (ВДРР) — группа заболеваний, характеризующаяся развитием рахитических изменений костной ткани вследствие повышенного выведения фосфора из организма [1–3]. Основными клиническими признаками ГФР являются задержка роста, прогрессирующие деформации ног с момента начала ходьбы, мышечная слабость, боль в костях, позднее прорезывание зубов или их частый кариес и абсцессы. В зрелом возрасте развиваются нефрокальциноз, кальцификация связок, артрозы крупных суставов, остеопороз. При некоторых формах ГФР имеется нейросенсорная тугоухость. Из-за гетерогенности клинической картины диагностика ГФР часто запаздывает, что ведет к неправильной тактике лечения. В РФ до настоящего времени отсутствуют данные о распространенности ГФР, а также алгоритмы диагностики и лечения этой патологии. Не проводились и исследования молекулярно-генетических основ данной группы заболеваний.

Цель исследования — определить клинические, гормонально-биохимические и молекулярно-генетические характеристики ГФР.

Материал и методы

Диагноз ГФР основывался на наличии клинических (рахитические деформации скелета, деформации ног с момента начала ходьбы, задержка физического развития, спонтанные абсцессы зубов) и рентгенологических признаков рахита (деформации трубчатых костей, разряжение зон метафизов), а также лабораторных показателей (гипофосфатемия, гиперфосфатурия, гиперкальциурия). Расчет тубулярной реабсорбции фосфатов (TRP, %) производили по формуле:

$$\% \text{ TRP} = 100 \cdot \{1 - [(U_{\text{ph}}/U_{\text{Cr}}) \cdot (\text{PCR}/\text{Pph})]\},$$

где Pph — уровень фосфатов в плазме (ммоль/л), PCr — уровень креатинина в плазме (ммоль/л), Uph — уровень фосфатов в моче (ммоль/л), UCr — уровень креатинина в моче (ммоль/л). За норму принимали значения trp в интервале 85–95%. Данный показатель можно измерять в любое время суток [4].

Формулы для вычисления максимальной реабсорбции фосфатов с поправкой на СКФ (TmP/GFR , ммоль/л) зависели от значения trp. При $\text{TRP} \leq 86\%$

$$\text{TmP}/\text{GFR} = \text{TRP} \cdot \text{Pph},$$

а при $\text{TRP} \geq 86\%$

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

Полученные значения сравнивали с референсными показателями для пациентов соответствующего пола и возраста (Payne, 1998).

Для вычисления индексов реабсорбции фосфатов необходимо одновременно производить забор

крови из вены для определения уровней фосфора и креатинина) и определять эти показатели определять во вторичной разовой порции мочи. Гиперкальциурию диагностировали при соотношении Са/креатинин в разовой порции мочи $>0,8$.

Геномную ДНК пациентов выделяли из периферических лейкоцитов с использованием стандартных методов. Молекулярно-генетический анализ проводили методом высокопроизводительного параллельного секвенирования с использованием панели Custom Ion Ampliseq («Life Technologies», США), включавшей праймеры для мультиплексной амплификации 22 генов, ассоциированных с наследственными нарушениями фосфорно-кальциевого обмена. Найденные миссенс-мутации аннотировались с помощью программы ANNOVAR, которая позволяет сравнивать список однонуклеотидных замен, полученных по результатам секвенирования, с рядом специализированных баз данных [5].

Данное исследование одобрено локальным этическим комитетом Эндокринологического научного центра Минздрава России (протокол №12 от 22.10.14). Письменное информированное согласие было получено от всех пациентов или их родителей/официальных опекунов в соответствии с протоколом исследования.

Сведения об авторах:

Куликова Кристина Сергеевна — клин. асп., ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Дмитрия Ульянова 11, Москва, Россия, 117036, e-mail: kristinakulikova87@gmail.com;

Колодкина Анна Александровна — к.м.н., ст.н.с. ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Дмитрия Ульянова 11, Москва, Россия, 117036; e-mail: anna_kolodkina@mail.ru;

Васильев Евгений Витальевич — к.м.н., ст.н.с. ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Дмитрия Ульянова 11, Москва, Россия, 117036, e-mail: vas-evg@vasiliy@gmail.ru;

Петров Василий Михайлович — к.х.м., ст.н.с. ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Дмитрия Ульянова 11, Москва, Россия, 117036, e-mail: petrov.vasiliy@gmail.com;

Горбач Елена Николаевна — к.б.н., вед.н.с. ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России;

Гофман Федор Федорович — ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России;

Коркин Анатолий Яковлевич — ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России;

Петров Михаил Анатольевич — к.м.н., зав. отд. травматологии и ортопедии Морозовской детской клинической больницы Департамента здравоохранения Москвы, e-mail: m.petrov@me.com;

Кенис Владимир Маркович — д.м.н., доц., рук. отд. патологии стопы, нейроортопедии и системных заболеваний научно-исследовательского детского ортопедического института им.

Г.И. Турнера Минздрава России, e-mail: kenis@mail.ru;

Тюльпаков Анатолий Николаевич — д.м.н., зав. отд. наследственных эндокринопатий института детской эндокринологии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Дмитрия Ульянова 11, Москва, Россия, 117036, e-mail: genes@endocrincentr.ru

Результаты

Клинические и гормонально-биохимические характеристики.

Обследовали 75 пациентов (38 женщин и 37 мужчин в возрасте от 3 мес до 57 лет) с клиническими и биохимическими признаками ГФР; семейная форма патологии была диагностирована у 36 пациентов, спорадическая — у 39. ГФР чаще всего манифестировал деформациями нижних конечностей с момента начала ходьбы (94,5%), гипотонией на первом году жизни (70,2%), множественным кариесом зубов (58%). Пациенты старшей возрастной группы предъявляли жалобы на быструю утомляемость при ходьбе, тугоподвижность суставов, спонтанные абсцессы зубов. У 47 пациентов имелось отставание в физическом развитии: медиана (Me) роста составила $-2,48$ SD [$-3,55$; $-1,53$]. Самые низкие показатели роста отмечены в группе пациентов старше 18 лет ($n=30$), которые перенесли многократные операции по коррекции деформаций ног (ME роста $-3,3$ [$-4,3$; $-2,21$]). Данные лабораторных исследований: уровень неорганического фосфора в крови — Me = $0,79$ ммоль/л [$0,68$; $0,92$]; уровень паратгормона — Me = 59 пг/мл [$37,9$; 75]; Me TRP = $72,5\%$ [$65,8$; 80]; Me TMP/GFR = $0,58$ ммоль/л [$0,46$; $0,7$]. У 65 пациентов показатели экскреции кальция соответствовали норме, у 4 пациентов выявлена гиперкальциурия.

Молекулярно-генетические характеристики

Генетическая причина заболевания была определена у 68 (90,5%) пациентов. Все обнаруженные мутации локализовались в гене *PHEX*, из них ранее были описаны 18, ранее не описанных оказалось 40 [21]. При семейных формах патологии мутации были обнаружены в 100% случаев, при спорадических — в 82%. Дефекты гена *PHEX* включали инсерции и делеции со сдвигом рамки считывания ($n=16$), нонсенс-мутации ($n=12$), миссенс-мутации ($n=14$), делеции без сдвига рамки считывания ($n=6$), нарушение сплайсинга ($n=9$). У 1 пациента дефект гена *PHEX* (с.520_521insTTCAAGCACGG p.i174fs) сочетался с гетерозиготной мутацией в гене *DMP1* (с.475 C>A p.Q159K). У 7 пациентов ни в одном из генов-кандидатов мутаций не выявлено. Характерно, что у всех них заболевание было спорадическим.

Обсуждение

Нами впервые в России исследованы 10 генов-кандидатов (*PHEX*, *FGF23*, *DMP1*, *ENNP1*, *SLC34A1*, *SLC34A3*, *SLC9A3R1*, *SLC2A2*, *KL*) у пациентов с ГФР, а также проанализированы корреляции «гено-тип — фенотип». Дефект гена *PHEX* выявлен у всех пациентов с семейной формой и у 39 (82%) пробандов со спорадической формой заболевания. По типу наследования различают несколько форм ГФР; наиболее распространена X-сцепленная доминантная форма (X-linked hypophosphatemia, XLH; MIM 307

800), частота которой составляет 1:20 000 родившихся. Данная форма ГФР обусловлена дефектами в гене *PHEX* (MIM 300550) [6, 7]. Менее распространены аутосомно-доминантная (ген *FGF23*, MIM 605380) [8], аутосомно-рецессивные (гены *DMP1*, MIM 600980; *ENNP1*, MIM 173335 и *SLC34A3*, MIM 609826) [9–12] и X-сцепленная рецессивная (ген *CLCN5*, MIM 300008) формы [13].

Биохимическими и гормональными маркерами ГФР служат гипофосфатемия на фоне гиперфосфатурии, повышение активности щелочной фосфатазы, нормальный или умеренно повышенный уровень паратгормона при нормокальциемии. Концентрация $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ в сыворотке и степень кальциурии зависят от молекулярной основы заболевания [14].

По данным зарубежных исследований [15–20], в больших когортах пациентов с ГФР поломки гена *PHEX* определяются в 50–80% случаев. С. Gaucher и соавт. [21] обнаружили дефекты гена *PHEX* в 79%, Y. Kinoshita и соавт. [22] — в 96% случаев. В нашем исследовании соответствующая величина составила 90,5%. Все это подтверждает роль инактивирующих мутаций гена *PHEX* как основной причины ГФР.

Ген *PHEX* (Phosphate regulating gene with Homology to Endopeptidases located on the X chromosome), включающий 22 экзона, кодирует протеин из 749 аминокислот, который по своей структуре и функциям на 60–70% сходен с ферментами семейства M13 металлопептидаз. К ним относятся нейтральная эндопептидаза (NEP), эндотелин-превращающие факторы 1 и 2 (ECE-1 и 2) и Kell-антиген. Эти белки являются мембранными гликопротеинами, участвующими в расщеплении пептидных гормонов. В структуре пептидаз выделяют короткий N-концевой фрагмент, гидрофобный трансмембранный домен и большой C-внеклеточный домен с двумя Zn-связывающими мотивами и консервативными цистеиновыми остатками. Последний участок белка играет роль каталитического центра [3, 23]. Полагали, что продукт гена *PHEX* принимает участие в деградации фосфотонина FGF23. При инактивации этого гена концентрация FGF23 в крови в большинстве случаев возрастает, что снижает экспрессию генов *SLC34A1* и *SLC34A3*, кодирующих натрий-фосфорные котранспортеры 2-го типа (соответственно NaPi-IIa и NaPi-IIc). Эти котранспортеры регулируют реабсорбцию фосфора в проксимальных почечных канальцах; снижение их числа и активности ведет к потере организмом этого элемента. FGF23 также подавляет активность 1α -гидроксилазы (CYP27B1), которая образует активную форму витамина D (кальцитриол) и, наоборот, активирует 24-гидроксилазу (CYP24A1), превращающую кальцитриол в неактивные метаболиты [24].

Внутриклеточный фосфат принимает участие в аккумуляции энергии в виде АТФ, является неотъемлемой частью молекул ДНК и РНК, а также субстратом киназ и фосфатаз в клетке; внеклеточный

фосфат необходим для построения кристаллов гидроксиапатита костного матрикса. Резкое снижение концентрации фосфора в крови может приводить к острой миопатии, сердечной дисфункции, нарушению целостности мембран нейтрофилов, тромбоцитов и эритроцитов. Следствием хронической недостаточности фосфора является нарушение минерализации костей и развитие рахита.

Однако, гены *PHEX* и *FGF23* экспрессируются в остеобластах и остеоцитах, исследования на НУР-мышцах (модель ГФР) не подтверждают прямого взаимодействия продуктов данных генов. Предполагается существование в данной системе пока неизвестного промежуточного фактора (рис. 1) [25–27].

Выявленные в нашем исследовании мутации локализовались по всей длине гена *PHEX*, с наибольшей плотностью в 3'-концевых участках и наиболее часто в экзонах 3, 5, 15, 17, 18, 22 (рис. 2).

Среди выявленных мутаций 17% встречались более чем один раз: I174fs ($n=2$), P549X ($n=2$), G579R ($n=4$), Q133X ($n=2$), Q197Q ($n=2$) и R747X ($n=2$). Выявленные нами дефекты часто наблюдались и в других исследованиях [6, 17, 21], что может указывать на наличие регионов в гене, особенно подверженных перестройкам [28]. Замена аргинина на глицин в кодоне 579 (p.g579r) экзона 17 была обнаружена у трех несвязанных между собой пациентов и двух двоюродных братьев; аналогичный дефект был описан ранее у пациентов немецкого, польского, испанского и корейского происхождения. Эта мутация представляет большой интерес, так как находится рядом с высококонсервативным Zn-связывающим участком фермента. Y. Sabbagh и соавт. [23] показали, что при таком дефекте белок менее устойчив к гликозилированию, быстрее подвергается внутриклеточной деградации и тем самым теряет способность встраиваться в плазматическую мембрану.

Белок PHEX содержит 10 высококонсервативных остатков цистеина, которые необходимы для формирования его структуры и каталитической активности. Нами было выявлено 14 различных миссенс-мутаций, одна из которых обуславливала замену цистеина на тирозин в положении 733 (C733Y). Ранее в этом же кодоне была описана замена цистеина на серин (C733S) [16]. Потеря остатка цистеина приводит к нарушению правильной упаковки белка из-за потерь дисульфидных связей. Замена тимина на гуанин (c.2192T>G p.F731C) в этом же экзоне гена *PHEX*, напротив, способствовала образованию нового цистеинового остатка с заменой консервативного фенилаланина. Другой функционально значимой перестройкой является замена пролина на серин в положении 534, которая может снижать гидрофобность белка и тем самым нарушать идентификацию лигандом области связывания [29].

Нонсенс-мутации в данном исследовании составили 21%, 5 из них (W88X, L45X, E304X, Y317X,

S607X) считаются новыми, 7 были описаны ранее. Формирование стоп-кодона приводит к синтезу нефункционального белка.

Большие делеции составляют до 10% всех мутаций гена *PHEX*. Т. Pekkarinen и соавт. [30] обнаружили делеции экзонов 8–11, а Y. Kinoshita и соавт. [22] — экзонов 12–22. В нашем исследовании делеции экзонов составили 10,7%. У одного мальчика ген *PHEX* полностью отсутствовал. У двоих выявлены делеции экзонов 18, 21 и 22. В данных экзонах расположены высококонсервативные остатки цистеина, поэтому можно предположить, что их потеря приводит к нарушению формирования вторичной структуры белка.

В литературе имеется описание пациентов с сочетанием дефектов гена *PHEX* с мутациями в генах *DMP1*, *FGF23* [19]. Среди пациентов нашей когорты только у одного выявлена гемизиготная мутация в гене *PHEX* (p.I174fs) и гетерозиготная мутация в гене *DMP1* (p.Q159K), которая была ранее описана [19]. Моноаллельная замена p.Q159K в гене *DMP1* по предикторам базы данных ANNOVAR аннотирована как «условно патогенная» и, вероятнее всего, не влияет на развитие заболевания. В единичных случаях обнаруживаются гомозиготные мутации гена *DMP1* у пациентов с аутосомно-рецессивной формой ГФР; большинство таких мутаций также локализуется в экзоне 6 [9, 31].

Проведение молекулярно-генетической диагностики в раннем возрасте позволяет своевременно начать консервативное лечение, которое может улучшить структуру костной ткани и конечный рост, а также уменьшить необходимость корректирующих операций [7, 14, 32]. В настоящее время общепринятой схемой лечения является использование препаратов фосфора и активной формы витамина D. Однако результаты данной терапии неудовлетворительны. В последние годы показана высокая эффективность терапии с применением моноклональных антител к FGF23, которые нормализуют уровень фосфора в крови и уменьшают тяжесть клинических проявлений заболевания у взрослых пациентов [33].

Вопросы, касающиеся выбора лечебной тактики и возраста проведения оперативной коррекции деформаций нижних конечностей, остаются открытыми [34].

Заключение

Проведенное исследование позволило установить причину заболевания практически у всей когорты пациентов. Метод высокопроизводительного параллельного секвенирования дает возможность одновременно выявлять поломки во всех генах-кандидатах, участвующих в регуляции фосфорно-кальциевого обмена. Полученные результаты подтвердили преобладание дефектов гена *PHEX* среди причин ГФР. Сложность строения, а также большой размер

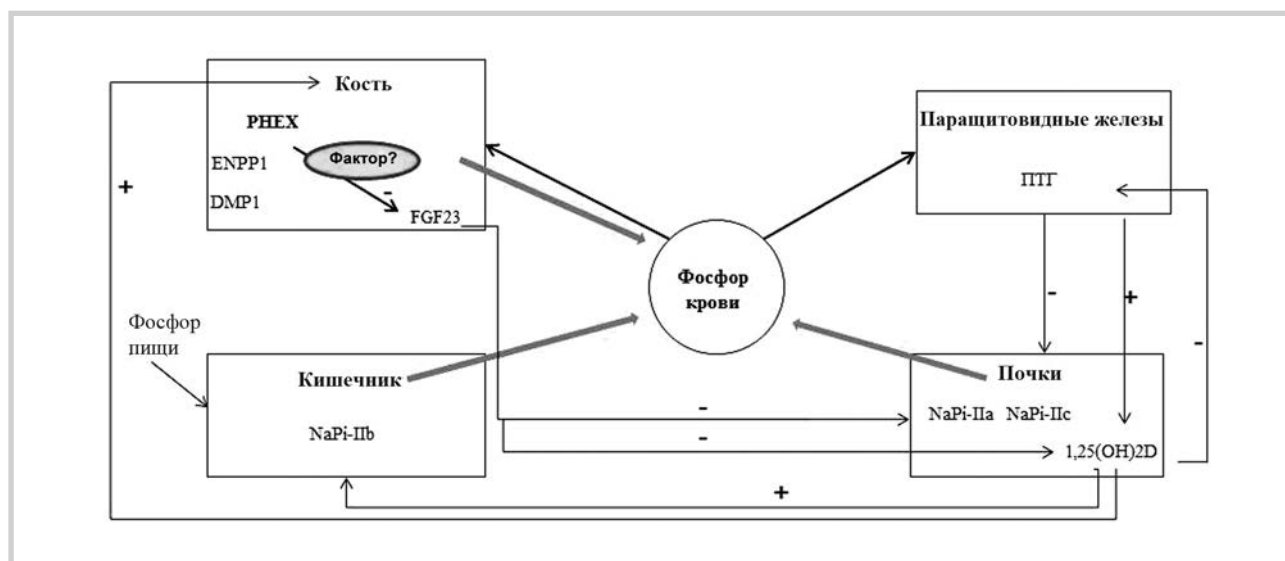


Рис. 1. Схема метаболизма фосфора в организме человека.

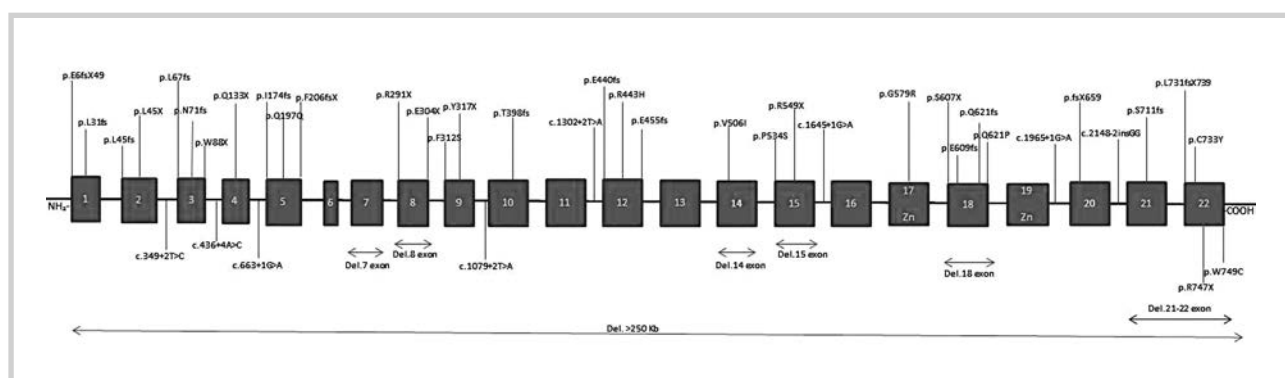


Рис. 2. Распределение выявленных в данном исследовании мутаций в гене *PHEX*.

этого гена экономически оправдывают использование данного метода для молекулярно-генетической диагностики. Определение этиологического фактора имеет большое значение для пренатальной диагностики семейных форм заболевания, а также позволяет своевременно назначать консервативное лечение.

Дополнительная информация

Финансирование исследования

Исследование проведено при финансовой поддержке благотворительного фонда «Линия жизни», благотворительного проекта «Альфа-Эндо».

ЛИТЕРАТУРА

- Amatschek S, Haller M, Oberbauer R. Renal phosphate handling in human — what can we learn from hereditary hypophosphataemias? *Eur J Clin Invest*. 2010;40(6):552–560. doi: 10.1111/J.1365-2362.2010.02286.X.
- Carpenter TO. The expanding family of hypophosphatemic syndromes. *J Bone Miner Metab*. 2011;30(1):1–9. doi: 10.1007/S00774-011-0340-2.
- Francis F, Hennig S, Korn B, et al. A gene (*PHEX*) with homologs to endopeptidases is mutated in patients with X-linked hypophosphatemic rickets. *Nat Genet*. 1995;11(2):130–136. doi: 10.1038/Ng1095-130.
- Chong WH, Molinolo AA, Chen CC, Collins MT. Tumor-induced osteomalacia. *Endocrine Related Cancer*. 2011;18(3):R53–R77. doi: 10.1530/Erc-11-0006.
- Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods*. 2010;7(4):248–249. doi: 10.1038/Nmeth0410-248.
- Beck-Nielsen SS, Brock-Jacobsen B, Gram J, et al. Incidence and prevalence of nutritional and hereditary rickets in Southern Denmark. *Eur J Endocrinol*. 2008;160(3):491–497. doi: 10.1530/Eje-08-0818.

7. Carpenter TO. New perspectives on the biology and treatment of X-Linked hypophosphatemic rickets. *Pediatr Clin North Am*. 1997;44(2):443-466. doi: 10.1016/S0031-3955(05)70485-5.
8. White KE, Evans WE, O'riordan JLH, et al. Autosomal dominant hypophosphatemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet*. 2000;26(3):345-348. doi: 10.1038/81664.
9. Feng JQ, Ward LM, Liu S, et al. Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. *Nat Genet*. 2006;38(11):1310-1315. doi: 10.1038/Ng1905.
10. Levy-Litan V, Hershkovitz E, Avizov L, et al. Autosomal-recessive hypophosphatemic rickets is associated with an inactivation mutation in the *ENPP1* Gene. *Am J Hum Genet*. 2010;86(2):273-278. doi: 10.1016/J.Ajhg.2010.01.010.
11. Lorenz-Depiereux B, Schnabel D, Tiosano D, et al. Loss-of-function *ENPP1* mutations cause both generalized arterial calcification of infancy and autosomal-recessive hypophosphatemic rickets. *Am J Hum Genet*. 2010;86(2):267-272. doi: 10.1016/J.Ajhg.2010.01.006.
12. Bergwitz C, Roslin NM, Tieder M, et al. SLC34A3 mutations in patients with hereditary hypophosphatemic rickets with hypercalciuria predict a key role for the sodium-phosphate cotransporter NaPi-IIc in maintaining phosphate homeostasis. *Am J Hum Genet*. 2006;78(2):179-192. doi: 10.1086/499409.
13. Cho HY, Lee BH, Choi HJ, et al. Renal manifestations of dent disease and Lowe syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2007;23(2):243-249. doi: 10.1007/S00467-007-0686-9.
14. Raeder H, Rafaelsen S, Bjerknes R. Monogenic phosphate balance disorders. 2011. doi: 10.5772/17841.
15. Sabbagh Y, Jones AO, Tenenhouse HS. PHEXdb, a locus-specific database for mutations causing X-linked hypophosphatemia. *Hum Mutat*. 2000;16(1):1-6. doi: 10.1002/1098-1004(200007)16:1<1::Aid-Humu1>3.0.Co;2-J.
16. Tynismaa H, Kaitila I, Nanto-Salonen K, et al. Identification of fifteen novel *PHEX* gene mutations in Finnish patients with hypophosphatemic rickets. *Hum Mutat*. 2000;15(4):383-384. doi: 10.1002/(Sici)1098-1004(200004)15:4<383::Aid-Humu18>3.0.Co;2-#.
17. Holm IA, Nelson AE, Robinson BG, et al. Mutational analysis and genotype-phenotype correlation of the *PHEX* gene in X-linked hypophosphatemic rickets. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(8):3889-3899. doi: 10.1210/Jcem.86.8.7761.
18. Clausmeyer S, Hesse V, Clemens PC, et al. Mutational analysis of the *PHEX* gene: novel point mutations and detection of large deletions by MLPA in patients with X-linked hypophosphatemic rickets. *Calcif Tissue Int*. 2009;85(3):211-220. doi: 10.1007/S00223-009-9260-8.
19. Ruppe MD, Brosnan PG, Au KS, et al. Mutational analysis of *PHEX*, *FGF23* and *DMP1* in a cohort of patients with hypophosphatemic rickets. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(3):312-318. doi: 10.1111/J.1365-2265.2010.03919.X.
20. Beck-Nielsen SS, 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.
21. Gaucher C, Walrant-Debray O, Nguyen T-M, et al. *PHEX* analysis in 118 pedigrees reveals new genetic clues in hypophosphatemic rickets. *Hum Genet*. 2009;125(4):401-411. doi: 10.1007/S00439-009-0631-Z.
22. Kinoshita Y, Saito T, Shimizu Y, et al. Mutational analysis of patients with FGF23 related hypophosphatemic rickets. *Eur J Endocrinol*. 2012. doi: 10.1530/Eje-12-0071.
23. Sabbagh Y, Boileau G, Campos M, et al. Structure and function of disease-causing missense mutations in the *phex* gene. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(5):2213-2222. doi: 10.1210/Jc.2002-021809.
24. Levine BS, Kleeman CR, Felsenfeld AJ. The journey from vitamin D-resistant rickets to the regulation of renal phosphate transport. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(11):1866-1877. doi: 10.2215/Cjn.03000509.
25. Strom TM, Francis F, Lorenz B, et al. *PHEX* gene deletions in Gy and Hyp mice provide mouse models for X-linked hypophosphatemia. *Hum Mol Genet*. 1997;6(2):165-171. doi: 10.1093/Hmg/6.2.165.
26. Quarles LD. FGF23, *PHEX*, and mepe regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003;285(1):E1-E9. doi: 10.1152/Ajpendo.00016.2003.
27. Rowe PSN. The wickkened pathways of FGF23, MEPE and *PHEX*. *Crit Rev Oral Biol Medicine*. 2004;15(5):264-281. doi: 10.1177/154411130401500503.
28. Young L, Jernigan RL, Covell DG. A role for surface hydrophobicity in protein-protein recognition. *Protein Sci*. 2008;3(5):717-729. doi: 10.1002/Pro.5560030501.
29. Ichikawa S, Traxler EA, Estwick SA, et al. Mutational survey of the *PHEX* gene in patients with X-Linked hypophosphatemic rickets. *Bone*. 2008;43(4):663-666. doi: 10.1016/J.Bone.2008.06.002.
30. Pekkarinen T, Lorenz-Depiereux B, Lohman M, Mäkitie O. Unusually severe hypophosphatemic rickets caused by a novel and complex re-arrangement of the *phex* gene. *Am J Med Genet A*. 2014;164(11):2931-2937. doi: 10.1002/Ajmg.A.36721.
31. Turan S, Aydin C, Bereket A, et al. Identification of a novel dentin matrix protein-1 (*DMP1*) mutation and dental anomalies in a kindred with autosomal recessive hypophosphatemia. *Bone*. 2010;46(2):402-409. doi: 10.1016/J.Bone.2009.09.016.
32. Pavone V, Testa G, Gioiatta Iachino S, et al. Hypophosphatemic Rickets: Etiology, Clinical Features And Treatment. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. 2014;25(2):221-226. doi: 10.1007/S00590-014-1496-Y.
33. Zhang X, Peyret T, Gosselin Nh, et al. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analyses from a 4-month intradose escalation and its subsequent 12-month dose titration studies for a human monoclonal anti-FGF23 Antibody (KRN23) in adults with X-linked hypophosphatemia. *The Journal Of Clinical Pharmacology*. 2015:n/a-n/a. doi: 10.1002/Jcph.611.
34. Al K, Farr S, Ganger R, et al. Windswept lower limb deformities in patients with hypophosphatemic rickets. *Swiss Med Wkly*. 2013. doi: 10.4414/Smw.2013.13904.