

X'E BAĞLI HIPOFOSFATEMİ (XLH) VE GENETİK KODLARI

GENETIC CODES OF X-LINKED HYPOPHOSPHATEMIA

Hüseyin ONAY¹ 

¹Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

ORCID IDs of the authors: H.O. 0000-0002-0584-8866

Cite this article as: Onay H. Genetic codes of x-linked hypophosphatemia. J Ist Faculty Med 2020;83(Suppl.1):S17-S20.
doi: 10.26650/IUITFD.2020.0201

ÖZET

X'e bağlı hipofosfatemi (XLH, OMIM 307800) kalıtsal raşitizmin en sık gözlenen formudur ve X'e bağlı dominant bir kalıtım şekli gösterir. Hastalığın genetik temelini *PHEX* (Phosphate regulating gene with Homology to Endopeptidases on the X chromosome) genindeki fonksiyon kaybettirici mutasyonlar oluşturur. *PHEX* genindeki bu mutasyonlar, henüz bilinmeyen bir mekanizmayla FGF23'ün aşırı üretimine neden olur. Bu gendeki mutasyonlar X'e bağlı dominant olarak kalıtlıdır. *PHEX* genindeki ilk mutasyon 1955 yılında tanımlanmıştır ve o günden günümüze kadar hastalıkla ilgili toplam 467 farklı mutasyon bildirilmiştir. *PHEX* genindeki mutasyonlar gen boyunca dağınık olarak bulunurlar ve herhangi bir mutasyon sıcak noktası bulunmamaktadır. XLH'de belirgin bir genotip-fenotip korelasyonu bulunmamaktadır. XLH'de *PHEX* mutasyon taraması iki basamaklı yapılmalıdır. Öncelikle dizi analizi yöntemi ile nokta mutasyonlar araştırılmalıdır. Tüm olguların yaklaşık %15'inde dizi analizi yöntemi ile saptanamayan büyük delesyon/duplikasyonlar bulunmaktadır ve bu mutasyonlar MLPA (Multiple Ligation dependent Probe Amplification) yöntemi ile taranmalıdır. Mutasyon saptanan olguların ailelerinde kardeş/aile taraması yapılması erken tanı için oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: X'e bağlı hipofosfatemi, genetik tanı, mutasyon

ABSTRACT

X-linked hypophosphatemia (XLH, OMIM 307800) is the most common form of hereditary rickets and it is an X-linked dominantly inherited disorder. Loss of function mutations in the *PHEX* (Phosphate regulating gene with Homology to Endopeptidases on the X chromosome) gene are responsible for XLH. These mutations in the *PHEX* gene cause an elevation in FGF23 levels via an unknown mechanism. The first mutation in the *PHEX* gene was identified in 1955 and since then 467 different causal mutations have been identified. Mutations in the *PHEX* gene are distributed across all coding exons and exon-intron boundaries and there is no specific mutation hotspot in the gene. A genotype-phenotype correlation has not been well established. *PHEX* mutation screening is performed in a two-tier strategy. Sequencing of the coding exons and exon-intron boundaries can detect 85% of all causal mutations. Deletions/duplications are responsible for the remaining mutations and the MLPA (Multiple Ligation dependent Probe Amplification) method must be used in order to detect these mutations. Sibling/family screening is important in order to diagnose cases who have a high risk of developing XLH.

Keywords: X-linked hypophosphatemia, genetic diagnosis, mutation

GİRİŞ

X'e bağlı hipofosfatemi (XLH, OMIM 307800) kalıtsal raşitizmin en sık gözlenen formudur ve X'e bağlı dominant bir kalıtım şekli gösterir. Bu hastalık fosfat kaybı ile giden kalıtsal tabloların prototipidir ve insidansı 3,9-5/100.000'dir. Hastalığın genetik temelini *PHEX* (Phosphate regulating

gene with Homology to Endopeptidases on the X chromosome) genindeki fonksiyon kaybettirici mutasyonlar oluşturur. *PHEX* genindeki bu mutasyonlar, henüz bilinmeyen bir mekanizmayla FGF23'ün aşırı üretimine neden olur (1). *PHEX* genindeki ilk mutasyon 1955 yılında tanımlanmıştır ve o günden günümüze kadar hastalıkla ilgili toplam 467 farklı mutasyon bildirilmiştir (HGMD).

İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: huseyin.onay@ege.edu.tr

Başvuru/Submitted: 11.03.2020 • **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 16.04.2020 •

Son Revizyon/Last Revision Received: 18.04.2020 • **Kabul/Accepted:** 20.04.2020 • **Online Yayın/Published Online:** 13.05.2020

©Telif Hakkı 2020 J Ist Faculty Med - Makale metnine jmed.istanbul.edu.tr web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2020 by J Ist Faculty Med - Available online at jmed.istanbul.edu.tr

FGF23, fosfat ve vitamin D homeostazının kritik bir düzenleyicisidir. Artmış FGF23 seviyeleri renal fosfat reabsorbsiyonunu baskılayarak kronik hipofosfatemiye neden olmaktadır (2). FGF23'ün bu kritik rolü nedeni ile kalıtsal hipofosfatemik tablolar FGF23'e bağımlı ve FGF23'ten bağımsız hipofosfatemik raşitizmler olarak iki grupta incelenebilir (3). FGF23'e bağımlı hipofosfatemik raşitizmler grubunda en sık *PHEX* (X'e bağılı dominant), *FGF23* (Otozomal dominant kalıtım), *DMP1* (Otozomal resesif kalıtım) ve *ENPP1* (Otozomal resesif kalıtım) genlerindeki mutasyonlara bağılı olgular gözlenir. *PHEX* genindeki mutasyonlar ailesel hipofosfatemilerin %80'inde gözlenir. Türk toplumunda da bu oran %87'dir (3, 4).

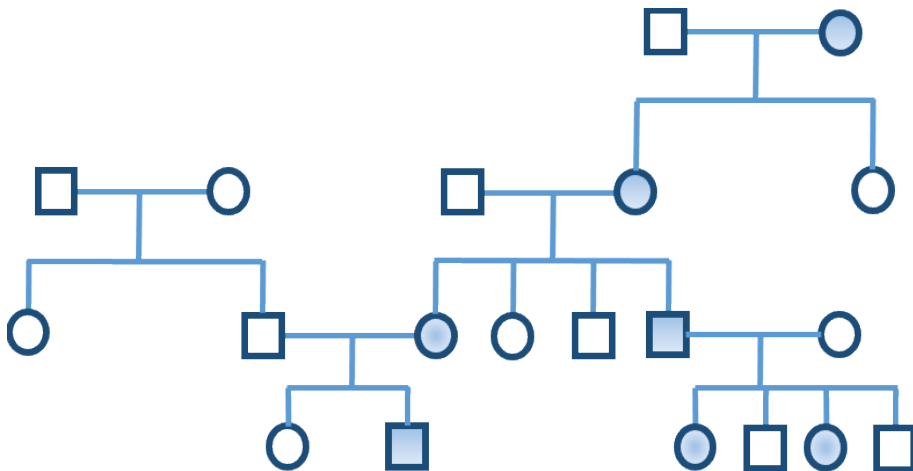
PHEX geni Xp22,1 lokusunda yer alan 22 ekzondan oluşan ve 749 aminoasit uzunluğunda protein kodlayan bir gendir. *PHEX* proteini plazma membranında yer alan bir transmembran proteindir ve çinko metalloproteinaz ailesine aittir ve peptid hormonların aktivasyonunda veya parçalanmasında görev alır. Ağırlıklı olarak kemiklerdeki osteoblast ve osteoklastlar ile dişlerde odontoblastlarda ve paratiroid dokularda eksprese olur (6). Bu gendeki mutasyonlar X'e bağılı dominant olarak kalıtılır. X'e bağılı dominant kalıtımı, X'e bağılı resesif kalıttan ayıran en önemli unsur, tek X kromozomundaki *PHEX* geninde mutasyon olduğunda kadınların taşıyıcı değil, hasta olmasıdır. X'e bağılı dominant kalıtım esas olarak otozomal dominant kalıtım şekli ile karışır. Otozomal dominant kalıttan farklı olarak XLH'de hasta bir babanın tüm kız çocuklarının hasta olması, tüm erkek çocuklarının ise sağlıklı olması beklenir. Bu oran otozomal dominant kalıttan sabit ve cinsiyetten bağımsız olarak %50'dir. XLH'de etkilenmiş bir annenin çocuklarının cinsiyetten bağımsız olarak %50 oranında hasta olma riski vardır. Klasik bir X'e bağılı dominant aile ağacı örneği Şekil 1'de gösterilmiştir (Şekil 1). Erkeklerde tek X kromozomu olması nedeniyle, eğer erkek XLH hastasında mutasyon saptanıyorsa bu mutasyon "hemizigot" olarak tanımlanır. X'e bağılı domi-

nant kalıtım son derece nadir olarak gözlenen bir kalıtım şekli olup teorik olarak erkeklerin daha ağır hasta olması beklenirken XLH'de bu gözlenmez. Genin rastgele X inaktivasyonuna uğraması nedeniyle hastalık hem kadın hem de erkeklerde gözlenmektedir ve hastalık ağırlığı cinsiyetten bağımsızdır. *PHEX* genindeki mutasyonlar 1/20.000 sıklıkta gözlenmektedir ve sporadik olgularda kadın/erkek oranı 5/1'dir. Sporadik kadın olguların %83'ünde *de novo* mutasyon gözlenmektedir. Ülkemizden yapılan bir çalışmada 6 ailenin 4'ünde *de novo* mutasyon saptanmıştır (7). Bu oran aile öyküsü olmayan olgularda da XLH düşünülmesinin ve mutasyon taraması yapılmasının önemini göstermektedir.

PHEX genindeki mutasyonlar gen boyunca dağınık olarak bulunurlar ve herhangi bir mutasyon sıcak noktası bulunmamaktadır. Tekrarlayan bazı mutasyonlar farklı toplumlarda bildirilmiş olsa da bunlar öncelikli taramayı gerektirecek yoğunluğa erişmemektedir. Çin toplumunda yapılan güncel geniş bir çalışmada p.P534L, p.G579R, p.R747X ve c.1645+1G>A mutasyonları mutasyonel sıcak noktalar olarak bildirilmiştir (1). Özellikle 5' UTR bölgesinde yer alan mutasyonlar nedeniyle genin proteine kodlanmayan bu ön düzenleyici bölgesinin dizilenmesi önemlidir (Şekil 2) (8).

XLH'de yaygın klinik farklılık olsa da, penetrans 1 yaşına kadar %100'dür. Penetrans açısından kadınlar ve erkekler arasında bir fark bulunmamaktadır (9). Son derece nadir olmakla beraber aşırı kaymış X inaktivasyonu nedeniyle mutasyon taşıyıp klinik göstermeyen olgular olabilir. Bu olgularda X inaktivasyon testinin kandan değil, dokudan yapılması önemlidir.

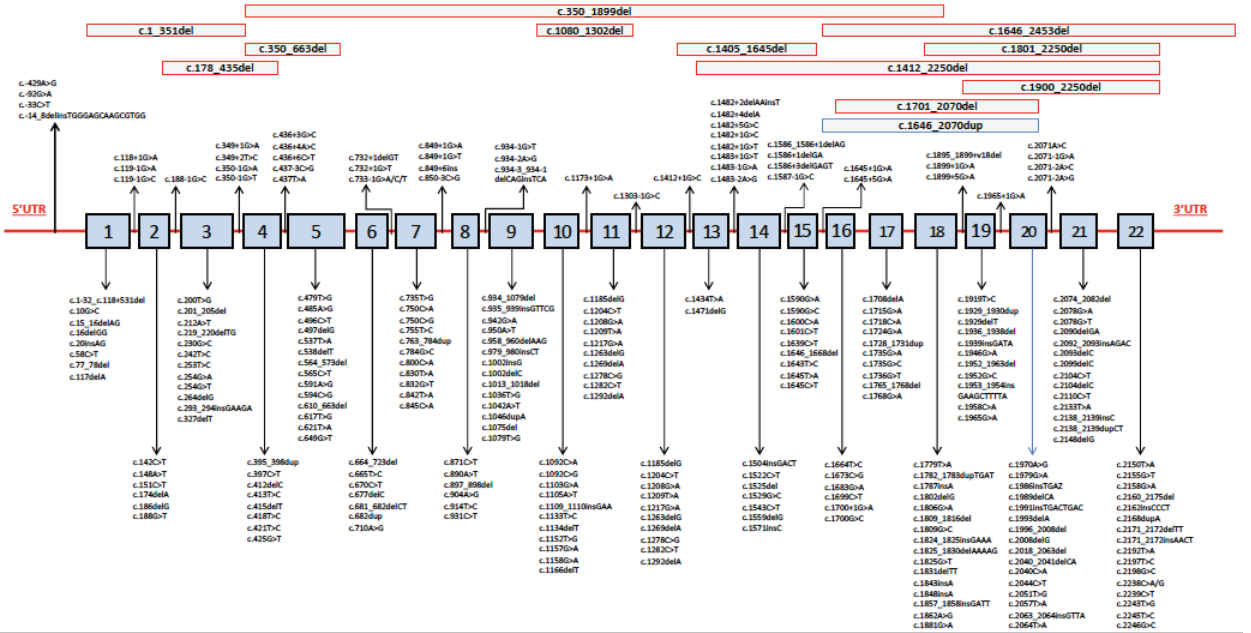
XLH'de belirgin bir genotip-fenotip korelasyonu bulunmamaktadır. Yine de yapılan çalışmalar bazı ipuçları sunmaktadır. Örneğin olguların yarısında sonlandırıcı kodon oluşturan nonsense mutasyonlar bulunmaktadır (p.R111X, p.R222X vb.). Bunların da çoğunlukla arginin (R)



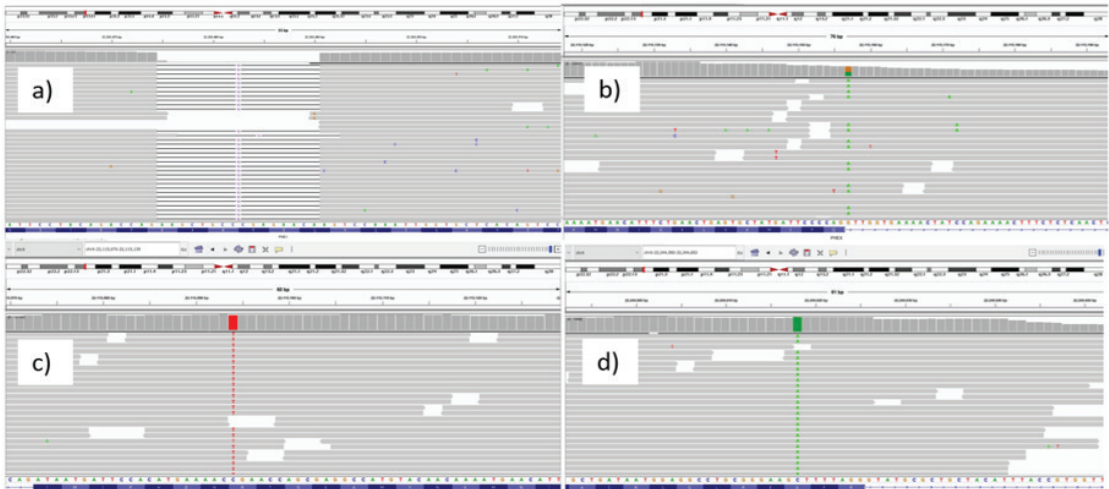
Şekil 1: XLH aile ağacı örneği.

aminoasitinin stop kodona dönmesi sonucunda oluştuğu gözlenmiştir. Ayrıca missense (yanlış anlamlı) mutasyonların çoğunlukla arginin (R) aminoasitine dönüşümlü ilişkili olduğu gözlenmiştir (p.C85R, p.G579R, p.S711R vb.). Pozitif yüklü arginin aminoasiti oluşturan bu tür mutasyonların protein katlanmasını bozup, final ürünün hücre içinde kalmasına sebep olduğu hipotez edilmiştir (10). Ayrıca diş ve işitme problemleri olan hastalarda daha çok ekzonların 5' ucunda mutasyon olduğu (11), katlanma defekti ya da genin C terminali bölgesini etkileyen mutasyonların ciddi kemik deformiteleri yarattığı gözlenmiştir (12).

XLH'de PHEX mutasyon taraması iki basamaklı yapılmıştır. Öncelikle dizi analizi yöntemi ile nokta mutasyonlar araştırılmalıdır. PHEX geninin 22 tane kodlayıcı ekzonunun ve ekzon intron bileşkelerinin dizilenmesi sonucunda mutasyonların %85' lik bölümü saptanabilir (1). Dizi analizi yöntemi olarak gerek Sanger dizileme gerekse Yeni Nesil Dizi Analizi (YNDA, NGS) kullanılabilir. Genin nispeten büyük olması nedeniyle günümüzde çoğunlukla YNDA teknolojisi tercih edilmektedir. Yeni nesil dizi analizi ile saptanmış mutasyonlara ait görüntüler Şekil 3'te verilmiştir.



Şekil 2: PHEX genindeki mutasyon dağılımı.



Şekil 3: PHEX geninde YNDA yöntemi ile saptanan farklı mutasyonlar: a) Hemizigot c.2096_2111delAA GCTGCCCGAGAACA (p.A700fsX35) (erkek hasta), b) Heterozigot IVS8+1G>A (kadın hasta), c) Hemizigot p.R291X (c.871C>T) (erkek hasta), d) Hemizigot p.A653D (c.1958C>A) (erkek hasta).

Tüm olguların yaklaşık %15'inde dizi analizi yöntemi ile saptanamayan büyük delesyon/duplikasyonlar bulunmaktadır. Bu tür kopya sayısı değişikliklerinin büyük oranda delesyon olduğu bilinmektedir. Bunların saptanmasında MLPA (Multiple Ligation dependent Probe Amplification) yöntemi kullanılmaktadır. Moleküler tanı algoritmasını özetlemek gerekirse, kadın hastalarda öncelikle dizi analizi ile PHEX mutasyonu araştırılmalı ve negatifse MLPA yöntemi uygulanmalıdır. Erkeklerde de öncelikle dizi analizi yöntemi uygulanmalıdır. Erkeklerde tek X kromozomu olduğu için delesyon durumunda MLPA yapılmadan dizi analizi görüntüsü üzerinden indirekt tanı konabilmektedir. Çünkü bu büyük delesyonlu bölgelerden PCR elde edilemediği için sonuç delesyon şeklinde yorumlanabilmektedir. Nadiren de olsa mutasyon saptanamayan olgularda derin intronik ve regülatuar bölgelerin sekanslanması gerekliliği akılda bulundurulmalıdır.

Her genetik hastalık ve genetik test sürecinde olduğu gibi XLH'de de mutlaka test öncesi ve sonrası bireye/aileye genetik danışmanlık verilmelidir. Mutasyon saptanan olguların ailelerinde kardeş/aile taraması yapılması erken tanı için oldukça önemlidir. Mutasyonu bilinen ailelerde prenatal tanı ve preimplantasyon genetik tanı süreçleri mutlaka aileler ile detaylıca paylaşılmalıdır.

Teşekkür: Desteklerinden ötürü Prof. Dr. Feyza Darendeliler, Prof. Dr. Bilgin Yüksel, Prof. Dr. Damla Gökşen, Prof. Dr. Fatih Süheyl Ezgü, Doç. Dr. Halil İbrahim Balcı, Prof. Dr. Leyla Tümer, Doç. Dr. Mehmet Nuri Özbek, Dr. Öğr. Üyesi Onur Buğdaycı, Prof. Dr. Serap Turan, Prof. Dr. Şükran Darcan ve Prof. Dr. Zehra Aycan'a teşekkür ederim.

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım-H.O.; Veri Toplama-H.O.; Veri Analizi/Yorumlama- H.O.; Yazı Taslağı- H.O.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- H.O.; Son Onay ve Sorumluluk- H.O.; Malzeme ve Teknik Destek- H.O.; Süpervizyon- H.O.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Acknowledgement: I would like thank to Prof. Dr. Feyza Darendeliler, Prof. Dr. Bilgin Yüksel, Prof. Dr. Damla Gökşen, Prof. Dr. Fatih Süheyl Ezgü, Doç. Dr. Halil İbrahim Balcı, Prof. Dr. Leyla Tümer, Doç. Dr. Mehmet Nuri Özbek, Dr. Öğr. Üyesi Onur Buğdaycı, Prof. Dr. Serap Turan, Prof. Dr. Şükran Darcan ve Prof. Dr. Zehra Aycan for their contribution to my study.

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- H.O.; Data Acquisition- H.O.; Data Analysis/Interpretation- H.O.; Drafting Manuscript- H.O.; Critical Revision of Manuscript- H.O.; Final Approval and Accountability- H.O.; Technical or Material Support- H.O.; Supervision- H.O.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Zhang C, Zhao Z, Sun Y, Xu L, JiaJue R, Cui L, et al. Clinical and genetic analysis in a large Chinese cohort of patients with X-linked hypophosphatemia. *Bone* 2019;121:212-20. [\[CrossRef\]](#)
2. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, Muto T, Hino R, Takeuchi Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004;19:429-35. [\[CrossRef\]](#)
3. Acar S, Demir K, Shi Y. Genetic Causes of Rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2017;9:88-105. [\[CrossRef\]](#)
4. Guven A, Al-Rijjal RA, Binessa H, Dogan D, Kor Y, Zou M, et al. Mutational analysis of PHEX, FGF23 and CLCN5 in patients with hypophosphatemic rickets. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2017;87:103-12. [\[CrossRef\]](#)
5. Şıklar Z, Turan S, Bereket A, Baş F, Güran T, Akberzade A, et al. Nationwide Hypophosphatemic Rickets Cohort Study. *JCRPE* 2019. [\[CrossRef\]](#)
6. Bitzan M, Goodyer PR. Hypophosphatemic Rickets. *Pediatr Clin N Am* 2019;66:179-207. [\[CrossRef\]](#)
7. Durmaz E, Zou M, Al-Rijjal RA, Baitei EY, Hammami S, Bircan I, et al. Novel and de novo PHEX mutations in patients with hypophosphatemic rickets. *Bone* 2013;52:286-91. [\[CrossRef\]](#)
8. Beck-Nielsen SS, Mughal Z, Haffner D, Nilsson O, Levchenko E, Ariceta G, et al. FGF23 and its role in X-linked hypophosphatemia-related morbidity. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2019;14:58. [\[CrossRef\]](#)
9. Owen JC, Habeb A, Pearce SH, Wright M, Ichikawa S, Sorenson AH, et al. Discordance of X linked hypophosphatemic rickets in identical twin girls. *Horm Res* 2009;71:237-44. [\[CrossRef\]](#)
10. Sabbagh Y, Boileau G, DesGroseillers L, Tenenhouse HS. Disease-causing missense mutations in the PHEX gene interfere with membrane targeting of the recombinant protein. *Hum Mol Genet* 2001;10:1539-46. [\[CrossRef\]](#)
11. Popowska E, Pronicka E, Sułek A, Jurkiewicz D, Rowińska E, Sykut-Cegielska J, et al. *J Appl Genet* 2001;42(1):73-88.
12. Song HR, Park JW, Cho DY, Yang JH, Yoon HR, Jung SC. PHEX gene mutations and genotype-phenotype analysis of Korean patients with hypophosphatemic rickets. *J Korean Med Sci* 2007;22:981-6. [\[CrossRef\]](#)