

LE FOSFATONINE: RECENTI ACQUISIZIONI E POSSIBILI EVOLUZIONI NELLA CLINICA

G. Mossetti¹, D. Rendina¹, G. De Filippo², G. Zampa¹, P. Strazzullo¹

¹Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi "Federico II", Napoli

²Endocrinologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale "G. Rummo", Benevento

Phosphatonins: novel insights and clinical perspectives

Phosphate plays a vital role in several biological processes including energy and nucleic acid metabolism, cell signaling and bone mineralization. Several endocrine factors coordinately act on the intestine, kidney and bone to maintain their physiological homeostasis. A number of peptides, collectively known as phosphatonins, have recently been identified as regulators of phosphate metabolism in physiological and pathological conditions. These factors – fibroblast growth factors (FGF) 23 and 7, secreted frizzled related protein 4 (sFRP-4), and matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE) – primarily regulate tubular phosphate reabsorption by acting on the transmembrane expression of SLC34 sodium-phosphate cotransporters. FGF-23, FGF-7 and sFRP-4 also inhibit the biosynthesis of 1,25(OH)₂D₃, leading to decreased intestinal phosphate absorption. In this review, we discuss the biological properties of these peptides, their physiological roles, and the alterations in their concentrations in various hypophosphatemic and hyperphosphatemic clinical disorders. (G Ital Nefrol 2009; 26: 171-80)

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

1,25(OH)₂D₃,
Phosphatonins,
FGF23,
Phosphate
homeostasis,
SLC34

PAROLE CHIAVE:

1,25(OH)₂D₃,
Fosfatoni,
FGF23,
Omeostasi dei
fosfati,
SLC34

✉ Indirizzo degli Autori:

Dr. Giuseppe Mossetti
Dipartimento di Medicina Clinica e
Sperimentale
Università degli Studi "Federico II"
Via Sergio Pansini, 5
80131 Napoli
e-mail: giomosse@unina.it

INTRODUZIONE

Il fosforo è un minerale del gruppo dell'azoto che rappresenta in media circa l'1% del peso corporeo di un individuo adulto (1). Circa l'80% del fosforo presente nell'organismo si trova nella componente minerale del tessuto osseo in forma di idrossiapatite cristallina (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂), il 9% nei muscoli scheletrici, il 10.9% nei diversi tessuti viscerali e lo 0.1% nell'ambiente extracellulare (2, 3). Nell'ambiente intracellulare, il fosforo è presente a concentrazione di 1-2 mmol/L, sia all'interno di numerosi composti organici, quali proteine, metaboliti intermedi di carboidrati e lipidi, molecole ad alta energia (ATP, creatinfosfato) ed acidi nucleici, sia in forma di anioni liberi (H₂PO₄⁻ e HPO₄⁻) (1-5). Questa miscela di anioni liberi, indicata generalmente come "fosfati", è presente nel plasma degli individui adulti a concentrazioni comprese 0.75 e 1.45 mmol/L in una condizione di sostanziale equilibrio con l'ambiente intracellulare. Il 90% dei fosfati plasmatici sono ionizzati o legati a calcio, magnesio e sodio e vengono filtrati a livello glomerulare. Solo il 10-

12% dei fosfati plasmatici è legato a proteine e non viene filtrato a livello glomerulare (1). I livelli plasmatici di fosfati variano normalmente fino al 50% durante la giornata, in rapporto all'assunzione di cibo e alla presenza di un ritmo circadiano che determina un nadir tra le 7 e le 10 del mattino (1, 3).

I fosfati sono ampiamente disponibili nei cibi ed il loro apporto dietetico medio è di 800-900 mg/die nei paesi industrializzati (5). L'assorbimento dei fosfati avviene a livello dell'intestino tenue, particolarmente del digiuno, attraverso due meccanismi: uno passivo, sodio-indipendente, paracellulare e saturabile ed uno attivo, non saturabile e sodio-dipendente (1, 5). L'assorbimento passivo paracellulare è responsabile dell'assorbimento di circa il 70% del carico di fosfati assunti con la dieta, è influenzato dalla concentrazione dei fosfati nel lume intestinale e avviene anche in assenza di vitamina D (1, 5). Il meccanismo di trasporto attivo può ulteriormente incrementare il tasso di assorbimento dei fosfati fino all'85-90% dell'apporto alimentare attraverso un meccanismo dipendente dall'1,25(OH)₂D₃ (1, 5).

Considerando che l'assorbimento intestinale di fosfato è molto efficiente, il controllo dei livelli serici di fosfati si realizza principalmente a livello del tubulo renale prossimale (6, 7). Il carico filtrato di fosfati è pari a circa 4-6 g/die. La frazione d'escrezione dei fosfati è generalmente compresa tra il 10 e il 15% (6, 7). Una rappresentazione schematica del metabolismo dei fosfati ed i fattori influenzanti l'assorbimento intestinale e l'escrezione renale dei fosfati sono riportate rispettivamente nella Figura 1 e nella Tabella I.

Il trasporto attivo attraverso la membrana apicale delle cellule digiunali e tubulari è regolato dall'espressione e dall'attività biologica di tre specifici co-trasportatori di membrana sodio-dipendenti, tutti membri della famiglia SLC (*Solute Carriers*) 34 (6, 7). NaPi-IIa (SLC34A1) e NaPi-IIc (SLC34A3) sono espressi a livello della membrana apicale delle cellule del tubulo renale prossimale mentre NaPi-IIb (SLC34A2) è espresso a livello della membrana apicale delle cellule digiunali. In entrambi gli epiteli, esiste un trasportatore di fosfati espresso a livello della membrana basale cellulare non ancora identificato. NaPi-IIa trasporta preferenzialmente cationi bivalenti di fosfati con un rapporto stechiometrico $\text{Na}^+:\text{PO}_4^-$ di 3:1 mentre NaPi-IIc opera secondo un rapporto stechiometrico $\text{Na}^+:\text{PO}_4^-$ di 2:1. L'espressione cellulare di NaPi-IIa e NaPi-IIc è strettamente regolata, così da adattare il riassorbimento renale di fosfati alle esigenze dell'organismo (Tab. II).

Dall'equilibrio dinamico tra riassorbimento attivo dei fosfati a livello tubulare renale, assorbimento attivo e passivo a livello digiunale e tessuto osseo dipende l'omeostasi dei fosfati (Fig. 1). Secondo lo schema "classico", la regolazione dell'omeostasi dei fosfati avviene attraverso l'interazione tra paratormone e

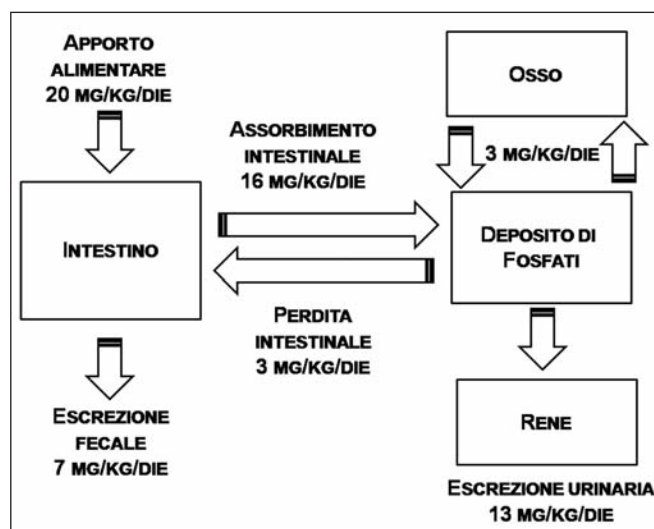


Fig. 1 - Omeostasi dei fosfati.

sistema della vitamina D, due ormoni in grado di regolare rispettivamente il riassorbimento renale e l'assorbimento intestinale di fosfati (1). Studi condotti su rari disturbi dell'omeostasi dei fosfati, in primis l'osteomalacia oncogenica e le forme di rachitismo ipofosforemico autosomico dominante (OMIM 193100) e X-linked (OMIM 307800), hanno permesso di evidenziare il ruolo svolto nella regolazione dell'omeostasi dei fosfati da parte di specifici fattori, indicati nel complesso come fosfatoinine, termine introdotto per la prima volta nel 1994 da Econs e Drezner (8). Questi disordini dell'omeostasi dei fosfati sono clinicamente caratterizzati da ridotti livelli serici di fosfati (<0.80 mmol/L) associati ad una ridotta soglia di rias-

TABELLA I - FATTORI INFLUENZANTI L'ASSORBIMENTO INTESTINALE E L'ESCREZIONE RENALE DEI FOSFATI

Fattori che influenzano l'assorbimento intestinale di fosfati

Aumentato assorbimento

- Ridotto introito di fosfati
- Elevati livelli serici di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

Ridotto assorbimento

- Ridotti livelli serici di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$
- Elevate concentrazioni di sali di calcio e chelanti dei fosfati nel lume intestinale

Fattori che influenzano il riassorbimento tubulare renale di fosfati

Aumentato riassorbimento

- Ridotti livelli serici di fosfati
- Ridotti livelli serici di PTH
- Ipovolemia
- Ipocalcemia
- Ipocapnia
- Ormone somatotropo
- Serotonina

Ridotto riassorbimento

- Aumentati livelli serici di fosfati
- Aumentati livelli serici di PTH
- Aumentati livelli serici di AMP ciclico
- Ipervolemia
- Ipercalcemia
- Ipercapnia
- Inibitori anidrase carbonica
- Dopamina
- FGF23, sFRP4, MEPE, FGF7

FGF: Fibroblast growth factor; sFRP: Secreted frizzled-related protein; MEPE: Matrix extracellular phosphoglycoprotein.

TABELLA II - CO-TRASPORTATORI DI MEMBRANA SODIO-FOSFATI TIPO II

	NaPi-IIa	NaPi-IIb	NaPi-IIc
Nome	SLC34a1	SLC34a2	SLC34a3
Locus	5q35	4p15.31-p15.2	9q34
Aminoacidi	640	690	599
Domini transmembrana	8	8	8
Na ⁺ /Pi	3:1	3:1	2:1
pH	5.5<7.5	5.5>7.5	5.5<7.5
Distribuzione tissutale	Rene	Intestino, polmone	Rene
Regolatori di funzione	PTH, introito di fosfati, 1,25(OH) ₂ D ₃ , FGF23	Introito di fosfati, 1,25(OH) ₂ D ₃ , estrogeni	PTH, introito di fosfati, FGF23

FGF: Fibroblast growth factor

sorbimento tubulare dei fosfati presenti nel filtrato glomerulare (TmPi/GFR <0.70 mmol/L) e livelli serici di paratormone e 1,25(OH)₂D₃ inappropriatamente bassi o normali in rapporto ai livelli serici di fosfati (2). Considerando la variabilità dei livelli serici di fosfati e la loro dipendenza dal carico alimentare, l'utilizzo contemporaneo della fosfatemia e del TmPi/GFR consente di ridurre la variabilità clinica del parametro, anche se nella espressione matematica usata per la determinazione del TmPi/GFR i livelli serici di fosfati sono presenti due volte (9).

TEST DI VERIFICA

1) I livelli serici di fosfati:

- Presentano un intervallo di variazione molto ristretto nel corso della giornata
- Non sono influenzati dall'assunzione di alimenti
- Non presentano un ritmo circadiano
- Presentano un nadir nel periodo post-prandiale
- Variano normalmente anche del 50% nel corso della giornata.

2) La percentuale di fosfati ultrafiltrabili è normalmente del:

- 10%
- 25%
- 40%
- 50%
- 90%.

3) L'assorbimento intestinale di fosfati:

- È un meccanismo estremamente efficiente
- Avviene prevalentemente nell'ileo distale
- Avviene esclusivamente attraverso un meccanismo vitamina D dipendente

d. Non risente della concentrazione intraluminare di sali di calcio

e. Tutte le precedenti risposte sono esatte.

4) Il trasporto attivo di fosfati attraverso la membrana apicale delle cellule tubulari renali è mediato da:

- Co-trasportatore di membrana sodio-dipendente SLC34A1
- Co-trasportatore di membrana sodio-dipendente SLC34A2
- Co-trasportatore di membrana sodio-dipendente SLC34A3
- Tutte le precedenti
- SLC34A1 e SLC34A3.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

FIBROBLAST GROWTH FACTOR-23

La prima tra le fosfatoni ad essere stata individuata è il *fibroblast growth factor-23* (FGF23; OMIM 605380), un fattore di crescita per i fibroblasti di 251 aminoacidi (30 kDa) codificato da un gene del cromosoma 12 (12p13.3) (10-12). Oltre ad essere l'ultimo tra i costituenti della sua famiglia ad essere identificato, FGF23 è anche l'unico ad avere attività paracrine ed endocrine. La biosintesi di FGF23 avviene, infatti, principalmente a livello del tessuto osseo mentre il suo principale ma non esclusivo sito d'azione è la parte prossimale del tubulo renale (13-16). Come graficamente rappresentato in Figura 2, a livello del tubulo renale, FGF23 controlla sia il riassorbimento dei

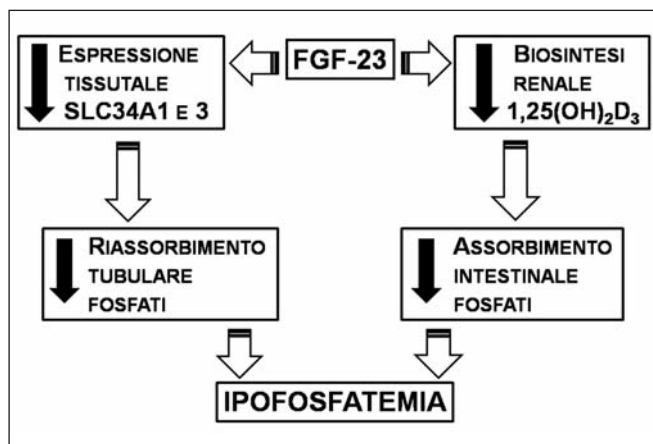


Fig. 2 - Meccanismo d'azione del fibroblast growth factor (FGF) 23.

fosfati, regolando l'espressione cellulare del co-transportatore NaPi-IIa, sia la biosintesi di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, regolando l'attività dell'enzima 1α -idrossilasi (15, 16). Le attività biologiche di FGF23 a livello del tubulo renale sono indipendenti dalle concentrazioni seriche di PTH (15, 16). FGF23 esercita le proprie attività biologiche attraverso l'interazione con un recettore di membrana (FGFR) di cui sono descritti 4 sottotipi, indicati con i numeri arabi da 1 a 4 (17, 18). I 4 sottotipi di FGFR sono comuni per tutti i componenti della famiglia FGF e sono caratterizzati dalla presenza di tre domini extracellulari immunoglobulino-simili. Mutazioni per *splicing* alternativo delle regioni genomiche codificanti per questi domini determinano la biosintesi di diverse varianti all'interno dei singoli sottotipi, identificate con le lettere dell'alfabeto latino minuscole (17, 18). L'espressione a livello tubulare dei diversi sottotipi del FGFR è finemente regolata, ma le specifiche attività endocrine di FGF23 a livello renale richiedono l'interazione del complesso FGF23-FGFR con altre molecole proteiche, una delle quali è Klotho (19-21). Klotho è una molecola di 1014 aminoacidi con un singolo dominio extracellulare ed una corta coda intracellulare (proteina di membrana di tipo 1), la cui mancata espressione in modelli sperimentali induce un fenotipo identico a quello indotto dalla mancata espressione di FGF23 (20). Klotho si lega al complesso FGF23-FGFR e rende FGFR specifico per FGF23, consentendo a livello sistemico la regolazione dell'omeostasi dei fosfati (21). Yamazaki et al. (22), utilizzando specifici anticorpi monoclonali, hanno recentemente dimostrato che i domini N- e C-terminali di FGF23 sono rispettivamente responsabili dell'interazione con FGFR e Klotho e che entrambi queste interazioni sono indispensabili per le attività biologiche di FGF23. La molecola proteica intatta di FGF23 è dotata di piena attivi-

tà biologica e viene clivata tra gli aminoacidi arginina 179 e serina 180 ad opera di enzimi specifici che riconoscono la sequenza arginina176-X-X-arginina179. Lo stato di O-glicosilazione della molecola di FGF23 influenza in maniera significativa il processo di degradazione enzimatica della stessa, in quanto la molecola completamente glicosilata (3 siti) è resistente al processo di clivaggio, mentre la molecola con uno o due siti glicosilati viene degradata (23). Dal clivaggio di FGF23 vengono generati un frammento C-terminale di 12 kDa ed uno N-terminale di 18 kDa (10). Non esistono al momento dati univoci riguardanti l'attività biologica di questi frammenti, che secondo recenti dati sperimentali manterrebbero una propria attività biologica fosfaturica e richiederebbero per l'inattivazione una successiva degradazione enzimatica (24).

La biosintesi ossea di FGF23 è regolata in un circuito di *feedback* negativo dai livelli serici di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (14). I dati attualmente disponibili, sebbene non conclusivi, sembrano indicare che l'apporto dietetico di fosfati non ha effetti significativi a breve e lungo termine sui livelli circolanti di FGF23 (25, 26). Oltre che nei disturbi da perdita renale di fosfati, elevati livelli circolanti di FGF23 sono stati riscontrati in soggetti con insufficienza renale cronica, nei quali dovrebbe concorrere alla patogenesi dell'iperparatiroidismo secondario e terziario, nei soggetti con iperparatiroidismo primitivo e nei soggetti con calcolosi renale recidivante e perdita renale di fosfati (15). Modelli sperimentali inoltre indicano un'azione biologica, diretta e/o mediata dai ridotti livelli plasmatici di fosfati, dell'FGF23 sul tessuto osseo con conseguente possibile coinvolgimento della molecola nella patogenesi dei disordini da riduzione della massa ossea, osteoporosi *in primis* (27). In questo scenario, la recente identificazione delle proprietà biologiche delle regioni C-terminale e N-terminale di FGF23, responsabili rispettivamente dell'interazione con FGFR e Klotho, e la conseguente biosintesi di anticorpi monoclonali diretti contro di esse potrebbe aprire nuove prospettive terapeutiche in queste condizioni cliniche (22).

Altre fosfatoni: *Secreted frizzled-related protein-4*, *fibroblast growth factor-7* e *matrix extracellular phosphoglycoprotein*.

Secreted frizzled-related protein-4 (sFRP-4) è un antagonista del segnale biologico delle proteine Wnt (*Wingless-type MMTV integration site family*), glicoproteine che determinano la stabilizzazione e l'accumulo intracellulare di β -catenina ed in questo modo controllano la trascrizione di diversi geni (2, 28). Come FGF23, anche sFRP-4 a livello del tubulo prossimale riduce il riassorbimento di fosfati, agendo sull'espressione cellulare dei co-transportatori di membrana sodio-fosfato e inibisce la biosintesi di

1,25(OH)₂D₃. Almeno in modelli sperimentali, l'espressione a livello del tubulo renale di sFRP-4 appare regolata dalle variazioni a lungo termine dell'introito alimentare di fosfati (29-31).

Il *fibroblast growth factor-7* (FGF7) è un fattore di crescita per fibroblasti strutturalmente simile a FGF23, isolato da tumori causanti osteomalacia oncogenica. In modelli cellulari, FGF7 inibisce il trasporto di membrana sodio-dipendente di fosfati. Tale attività è parzialmente ridotta dalla presenza nel modello cellulare di anticorpi anti-FGF7. La somministrazione di FGF7 in ratti ha un effetto fosfaturico (30, 32).

Matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE) è una glicoproteina ampiamente espressa a livello del tessuto osseo (2, 30, 33-35). Appartiene alla famiglia delle *small integrin-binding ligand N-linked glycoprotein* (SIBLING), come l'osteopontina e la sialoproteina ossea (35). Anche MEPE *in vivo* aumenta la frazione escreta di fosfati, riducendone il riassorbimento tubulare, e causa ipofosfatemia (36-41). Le proprietà fosfaturiche di MEPE sarebbero legate alla porzione C-terminale della molecola, il residuo peptidico ASARM (*acidic serine-aspartate-rich MEPE-associated motif*), che sarebbe staccato da MEPE grazie all'azione della catepsina. Una specifica endopeptidasi, PHEX (*phosphate-regulating gene with homologies to endopeptidases on the X chromosome*) sarebbe in grado di impedire la degradazione enzimatica di MEPE e la biosintesi di ASARM (36-41). Mutazioni di PHEX potrebbero abolire la funzione protettiva della proteina sulla degradazione enzimatica di MEPE e quindi causare un aumento dei livelli circolanti di ASARM con conseguente ridotto riassorbimento tubulare di fosfati, ipofosfatemia e demineralizzazione ossea (36-41). Dati sperimentali inoltre indicano che il peptide ASARM è in grado di stimolare la biosintesi di FGF23 (40). Da rilevare infine che contrariamente alle altre fosfatine, MEPE non inibisce la biosintesi renale di 1,25(OH)₂D₃ (41).

TEST DI VERIFICA

5) Fibroblast growth factor-23 (FGF23):

- Controlla il riassorbimento tubulare dei fosfati
- Controlla la biosintesi di 1,25(OH)₂D₃
- È elevato nei soggetti con osteomalacia oncogenica
- Viene prodotto principalmente a livello osseo
- Tutte le precedenti sono esatte.

6) Lo stato di O-glicosilazione della molecola proteica di FGF23:

- Inibisce il legame con il recettore di membrana FGFRs
- Inibisce l'interazione con Khloto

- Influenza i processi di degradazione enzimatica della molecola
- Regola l'interazione FGF23-PTH
- Regola l'interazione FGF23-1,25(OH)₂D₃.

7) Come agisce il fattore Khloto?

- Regola la biosintesi di FGF23
- È implicato nella degradazione enzimatica di FGF23
- È implicato nella degradazione enzimatica dei frammenti N-terminali di FGF23
- Si lega al complesso FGF23-FGFRs
- È un inibitore allosterico del legame FGF23-FGFRs.

8) Quale fosfatina non inibisce la biosintesi renale di 1,25(OH)₂D₃:

- FGF23
- sFRP-4
- FGF7
- MEPE
- Tutte le precedenti risposte sono esatte.

RUOLO DELLE FOSFATONINE IN DIVERSI DISORDINI CLINICI (Tab. III)

Osteomalacia oncogenica. L'osteomalacia oncogenica è una rara sindrome paraneoplastica, generalmente associata a tumori mesenchimali benigni, finora descritta in circa 200 casi. Clinicamente, i pazienti affetti da osteomalacia oncogenica presentano osteomalacia con fratture patologiche, ipofosfatemia, iperfosfaturia e livelli serici di PTH e 1,25(OH)₂D₃ inappropriatamente normali in rapporto ai livelli serici di fosfati (42). Queste caratteristiche fenotipiche sono causate dalla iperproduzione da parte del tessuto neoplastico di FGF23, sFRP-4, FGF7 e/o MEPE (30). Se il tumore causale viene identificato, cosa che accade in circa 2/3 dei casi dopo in media 5-6 anni di indagini, ed è possibile la rimozione chirurgica dello stesso, si ha la scomparsa della sindrome (42).

RACHITISMO IPOFOSFOREMICO X-LINKED

Il rachitismo ipofosforemico *X-Linked* (XLH) è un disordine ereditario del metabolismo dei fosfati clinicamente caratterizzato da ipofosfatemia, iperfosfaturia, osteomalacia e rachitismo ad esordio in epoca neonatale. La malattia è causata da una mutazione di una specifica endopeptidasi (PHEX) che in maniera verosimilmente indiretta dovrebbe essere implicata nella proteolisi di FGF23, i cui livelli circolanti periferici sono aumentati (2). In pazienti con XLH, sono stati anche

TABELLA III - DISORDINI CLINICI CARATTERIZZATI DA ALTERAZIONI DELL'OMEOSTASI DEI FOSFATI

Disordine	Fenotipo	Patogenesi
Osteomalacia oncogenica	Perdita renale di fosfati, ipofosfatemia, livelli di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inappropriatamente normali, osteomalacia	Iperproduzione di FGF23, FGF7, sFRP-4, MEPE
XLH	Perdita renale di fosfati, ipofosfatemia, livelli di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inappropriatamente normali, rachitismo	Mutazione di PHEX con elevati livelli serici di fosfatone
ADHR	Come XLH	Mutazioni di FGF23 con biosintesi di proteina resistente al clivaggio
ARHP	Come osteomalacia oncogenica	Mutazioni di DMP-1 con elevati livelli di FGF23
Calcinosi tumorale	Iperfosfatemia, ipofosfaturia, livelli di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ elevati o normali, calcificazioni ectopiche	Mutazioni di FGF23, GALNT3 e Klotho
Insufficienza renale cronica	Iperfosfatemia, ipofosfaturia, livelli serici di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ridotti	Elevate concentrazioni di FGF23 ed FGF7

XLH: Rachitismo ipofosforemico X-linked; ADHR: Rachitismo ipofosforemico autosomico dominante; ARHP: Ipofosfatemia autosomico recessiva; FGF: Fibroblast growth factor; sFRP: Secreted frizzled-related protein; MEPE: Matrix extracellular phosphoglycoprotein; DMP: Dentin matrix protein; GALNT: UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase.

descritti livelli circolanti di sFRP-4 e MEPE aumentati (35-41). Il legame patogenico tra le mutazioni di PHEX e gli elevati livelli circolanti di FGF23, sFRP-4 e MEPE è oggetto di studio.

RACHITISMO IPOFOSFOREMICO AUTOSOMICO DOMINANTE

I pazienti con rachitismo ipofosforemico autosomico dominante (ADHR) hanno caratteristiche fenotipiche e cliniche identiche ai pazienti con XLH. Nel 2000 il consorzio ADHR ha identificato mutazioni del gene dell'FGF23 quale causali la malattia (10). In particolare, il gene mutato codifica per una proteina senza un normale sito di aggancio per un enzima (la furina proconvertasi) fondamentale nella degradazione enzimatica della proteina. La molecola risultante è quindi resistente al processo di proteolisi enzimatica e l'accumulo di FGF23 non degradabile causa le patognomiche stimate dell'ADHR (10).

IPOFOSFATEMIA AUTOSOMICO RECESSIVA (ARHP)

Questa rara patologia, clinicamente caratterizzata da un quadro clinico di perdita renale di fosfati, è causata da mutazioni del gene DMP-1 (*Dentin matrix protein-1*) ed associata ad elevati livelli circolanti di FGF23 (43, 44).

CALCINOSI TUMORALE

I pazienti con calcinosi tumorale presentano iperfosfatemia, ridotta escrezione renale di fosfati ed elevate concentrazioni circolanti di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (2). Mutazioni di tre differenti geni sono implicati nella patogenesi di questo disordine. Un primo gruppo di mutazioni riguarda il gene GALNT3 (*UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 3*) che codifica per una glicosiltransferasi responsabile della O-glicosilazione della molecola di FGF23 (45). Lo stato di glicosilazione di FGF23 influenza in maniera significativa il processo di degradazione enzimatica della molecola, ma al momento il meccanismo legante le mutazioni di GALNT3 alla patogenesi della sindrome è ignoto (27). Altri pazienti affetti da calcinosi tumorale presentano mutazioni del gene dell'FGF23 che causano un difetto di *processing* della molecola, una sua ritenzione nell'apparato del Golgi e, quindi, sue ridotte concentrazioni seriche (46). Un ultimo gruppo di pazienti presenta infine mutazioni di Klotho (47).

INSUFFICIENZA RENALE CRONICA

Gli elevati livelli serici di fosfati e/o una ridotta clearance della molecola o dei suoi frammenti sono le cause dell'aumento dei livelli di FGF23 osservati nei pazienti con insufficienza renale cronica (48). In questi pazienti,

i livelli serici di FGF23 appaiono inversamente correlati al declino della capacità di filtrazione glomerulare ma non riescono comunque a correggere l'iperfosfatemia che caratterizza questa condizione clinica (49). Considerando le proprietà biologiche di FGF23, è stato proposto un ruolo patogenetico di questo fattore di crescita nella patogenesi dell'iperparatiroidismo secondario e terziario, nella progressione del danno funzionale renale, e nello sviluppo dell'osteodistrofia renale. All'espressione di questi quadri clinici concorrerebbero in particolare, la soppressione della biosintesi renale di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, mediata da FGF23, le alterazioni del rapporto calcio x fosfati, mediate dalla sua attività biologiche, e l'azione biologica diretta di FGF23 sulle cellule osteoblastiche ed osteoclastiche a livello delle unità di rimodellamento osseo (48-50).

DISPLASIA FIBROSA O SINDROME DI McCUNE-ALBRIGHT

La displasia fibrosa è una sindrome genetica causata da una mutazione somatica missense attivante di *GNAS-1* (*Guanine nucleotide-binding protein, alpha-stimulating activity polipeptide-1*) che causa quadri clinici pleomorfi caratterizzati dall'associazione tra una displasia fibrosa ossea, che può colpire diversi distretti scheletrici, patologie endocrine (pubertà precoce, acromegalia, sindrome di Cushing, tireopatia) e patologie cutanee (lesioni cutanee pigmentate). Oltre il 50% dei pazienti con sindrome di McCune-Albright presenta un disordine da perdita renale di fosfati ed in questi pazienti i livelli di FGF23 sono elevati, verosimilmente per iper-produzione di FGF23 a livello del tessuto osseo patologico (51-53).

IPOFOSFOREMIA POST-TRAPIANTO RENALE

Elevati livelli serici di FGF23 sono stati rilevati in pazienti sottoposti a trapianto renale che evidenziano nel decorso post-operatorio una persistente ipofosfatemia non associata ad elevati livelli serici di PTH (54).

IPOPARIROIDISMO

I livelli serici di FGF23 sono significativamente elevati nei pazienti con ipoparatiroidismo ma non sono comunque in grado di ristabilire uno stato di normofosfatemia. Questo quadro fenotipico sembra indicare che l'azione biologica di FGF23 richiede comunque l'interazione con il PTH (55).

CALCOLOSI RENALE RECIDIVANTE

In media un quinto dei pazienti con calcolosi renale recidivante presenta un disordine da perdita renale di fosfato caratterizzato clinicamente da ridotti livelli di fosfatemia e ridotta soglia di riassorbimento tubulare di fosfati (56). In questi soggetti, sono stati descritti elevati livelli serici di FGF23 (57).

LINEAR NEVOUS SEBACEUS SYNDROME (LNSS)

La LNSS è una raro disordine congenito clinicamente caratterizzato da una forma di iperplasia epidermica papillomatosa e da un eccesso di ghiandole sebacee. In alcuni casi, questa sindrome è associata ad una forma di rachitismo ipofosforemico ad esordio neonatale. In un soggetto con questa associazione sindromica sono stati descritti elevati livelli circolanti di FGF23. La terapia con octeotride e la escissione chirurgica dei nevi ha determinato la remissione del quadro clinico (58).

OSTEOGLOPHONIC DISPLASIA

Un disordine da perdita renale di fosfati con normali livelli serici di $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ed elevati livelli serici di FGF23 è stato descritto in pazienti con questa rara forma di craniostenosi sindromica associata a mutazioni missense del gene di *FGFR1*. In generale, mutazioni dei geni di *FGFR1* ed *FGFR2* sono implicate nella patogenesi delle sindromi cliniche associate a craniostenosi, mentre le mutazioni di *FGFR3* sono associate a sindromi dismorfiche (59).

PROSPETTIVE DI RICERCA

L'identificazione di FGF23 e delle altre fosfatoni ha aperto nuove prospettive in diversi campi di ricerca. La comprensione del ruolo biologico svolto dalle fosfatoni sta profondamente modificando la visione generale di processi biologici quali il *turnover* osseo ed il riassorbimento tubulare renale. Interessanti appaiono in questi ambiti le potenziali applicazioni terapeutiche legate allo sviluppo di anticorpi monoclonali anti-FGF23 o di molecole ricombinanti di FGF23 (27). La somministrazione di anticorpi neutralizzanti FGF23 in topi Hyp, il modello animale delle forme di rachitismo ipofosforemico, ha determinato in circa 4 settimane, la normalizzazione dei livelli serici di fosfati ed $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ed un miglioramento delle lesioni ossee (60). Oltre che nei soggetti con rachitismo ipofosfore-

mico, la somministrazione di anticorpi anti-FGF23 potrebbe trovare indicazione terapeutica anche nei soggetti con osteomalacia oncogenica, nei casi in cui il tumore causale non è identificato o non è trattabile chirurgicamente e nei soggetti con condizioni cliniche caratterizzate da ipofosforemia associata ad elevati livelli di FGF23.

Nei soggetti con forme iniziali di insufficienza renale cronica, è ipotizzabile in linea teorica l'utilizzo di FGF23 ricombinante al fine di aumentare l'escrezione renale di fosfati e migliorare il rapporto calcio x fosfati, anche se l'inibizione dell'espressione cellulare di 1- α idrossilasi potrebbe facilitare l'insorgenza di iperparatiroidismo secondario. Molto interessante infine appare l'utilizzo di FGF23 ricombinante nei soggetti con iperfosfatemia e calcinosi tumorale.

TEST DI VERIFICA

9) Clinicamente i disordini da perdita renale di fosfati sono caratterizzati da ridotti livelli serici di fosfati associati a:

- Elevata soglia di riassorbimento tubulare dei fosfati (TmPi/GFR)
- Elevati livelli serici di paratormone
- Elevati livelli serici di 1,25(OH) $_2$ D $_3$
- A+B+C
- Nessuna delle precedenti risposte è esatta.

10) Quale tra queste condizioni cliniche è caratterizzata da ipofosfatemia:

- Insufficienza renale cronica
- Osteomalacia oncogenica
- Ipoparatiroidismo
- Calcinosi tumorale
- Tutte le precedenti sono esatte.

11) La somministrazione di anticorpi neutralizzanti FGF23 in topi Hyp ha determinato:

- Normalizzazione dei livelli serici di fosfati
- Riduzione dei livelli serici di 1,25(OH) $_2$ D $_3$
- Osteonecrosi
- Tutte le precedenti risposte sono esatte
- Nessuna delle precedenti risposte è esatta.

RIASSUNTO

I fosfati sono coinvolti in diversi processi biologici vitali come il metabolismo energetico e degli acidi nucleici, la comunicazione intra- ed inter-cellulare ed il metabolismo osseo. Diversi fattori endocrini agiscono in maniera coordinata a livello intestinale, renale ed osseo per regolare la loro omeostasi in condizioni fisiologiche. Recentemente sono stati denominati alcuni peptidi, denominati come "fosfatone", i quali sono in grado di regolare il metabolismo dei fosfati in condizioni fisiologiche e patologiche. Questi peptidi, fibroblast growth factors (FGF) 23 e 7, secreted frizzled related protein 4 (sFRP-4), e matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE), controllano in primis il riassorbimento tubulare dei fosfati, agendo sull'espressione trans-membrana dei co-trasportatori sodio-fosfato della famiglia SLC34. FGF23, FGF7 e sFRP-4 sono inoltre in grado di inibire la biosintesi di 1.25(OH) $_2$ D $_3$, determinando in maniera indiretta una riduzione dell'assorbimento intestinale di fosfati. In questa rassegna, vengono discusse le proprietà biologiche di questi peptidi, il loro ruolo fisiologico e le variazioni delle loro concentrazioni in disordini clinici caratterizzati da ipofosfatemia ed iperfosfatemia.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

- Bringham FR. Regulation of calcium and phosphate homeostasis. In: DeGroot LJ, Jameson JL, Ed. Endocrinology, Philadelphia: W.B. Saunders Co., 2001; 1029-52.
- White KE, Larsson TE, Econs MJ. The roles of specific genes implicated as circulating factors involved in normal and disordered phosphate homeostasis: frizzled related protein-4, matrix extracellular phosphoglycoprotein, and fibroblast growth factor 23. Endocr Rev 2006; 27: 221-41. Epub 2006 Feb 7.
- Berndt T, Kumar R. Phosphatonins and the regulation of phosphate homeostasis. Annu Rev Physiol 2007; 69: 341-59.
- Takeda E, Taketani Y, Sawada N, Sato T, Yamamoto H. The regulation and function of phosphate in the human body. Biofactors 2004; 21: 345-55.
- Takeda E, Yamamoto H, Nashiki K, Sato T, Arai H, Taketani Y. Inorganic phosphate homeostasis and the role of dietary phosphorus. J Cell Mol Med 2004; 8: 191-200.
- Forster IC, Hernando N, Biber J, Murer H. Proximal tubular handling of phosphate: A molecular perspective. Kidney Int 2006; 70: 1548-59. Epub 2006 Sep 6.
- Miyamoto K, Ito M, Tatsumi S, Kuwahata M, Segawa H. New aspect of renal phosphate reabsorption: the type IIc sodium-dependent phosphate transporter. Am J Nephrol 2007; 27: 503-15. Epub 2007 Aug 7.

8. Econs MJ, Drezner MK. Tumor-induced osteomalacia-unveiling a new hormone. *N Engl J Med* 1994; 330: 1679-81.
9. Walton RJ, Bijvoet OL. Nomogram for derivation of renal threshold phosphate concentration. *Lancet* 1975; 2: 309-10.
10. ADHR Consortium. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet* 2000; 26: 345-8.
11. Weber TJ, Liu S, Indridason OS, Quarles LD. Serum FGF23 levels in normal and disordered phosphorus homeostasis. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 1227-34.
12. Quarles LD. FGF23, PHEX, and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285: E1-9.
13. Mirams M, Robinson BG, Mason RS, Nelson AE. Bone as a source of FGF23: regulation by phosphate? *Bone* 2004; 35: 1192-9.
14. Kolek OI, Hines ER, Jones MD, et al. 1alpha, 25-Dihydroxyvitamin D3 upregulates FGF23 gene expression in bone: the final link in a renal-gastrointestinal-skeletal axis that controls phosphate transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G1036-42. Epub 2005 Jul 14.
15. Fukumoto S, Yamashita T. FGF23 is a hormone-regulating phosphate metabolism-unique biological characteristics of FGF23. *Bone* 2007; 40: 1190-5. Epub 2007 Jan 4.
16. Yu X, Ibrahim OA, Goetz R, et al. Analysis of the biochemical mechanisms for the endocrine actions of fibroblast growth factor-23. *Endocrinology* 2005; 146: 4647-56. Epub 2005 Aug 4.
17. Werner S, Duan DS, de Vries C, Peters KG, Johnson DE, Williams LT. Differential splicing in the extracellular region of fibroblast growth factor receptor 1 generates receptor variants with different ligand-binding specificities. *Mol Cell Biol* 1992; 12: 82-8.
18. Itoh N, Ornitz DM. Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends Genet* 2004; 20: 563-9.
19. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature* 2006; 444: 770-4. Epub 2006 Oct 29.
20. Kurosaki H, Ogawa Y, Miyoshi M, et al. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J Biol Chem* 2006; 281: 6120-3. Epub 2006 Jan 25.
21. Razzaque MS, Lanske B. The emerging role of the fibroblast growth factor-23-klotho axis in renal regulation of phosphate homeostasis. *J Endocrinol* 2007; 194: 1-10.
22. Yamazaki Y, Tamada T, Kasai N, et al. Anti-FGF23 neutralizing antibodies demonstrate the physiological role and structural features of FGF23. *J Bone Miner Res* 2008; in press.
23. Frishberg Y, Ito N, Rinat C, et al. Hyperostosis-hyperphosphatemia syndrome: a congenital disorder of O-glycosylation associated with augmented processing of fibroblast growth factor 23. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 235-42.
24. Berndt TJ, Craig TA, McCormick DJ, et al. Biological activity of FGF-23 fragments. *Pflugers Arch* 2007; 454: 615-23. Epub 2007 Feb 27.
25. Ferrari SL, Bonjour JP, Rizzoli R. Fibroblast growth factor-23 relationship to dietary phosphate and renal phosphate handling in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 1519-24. Epub 2004 Dec 21.
26. Antonucci DM, Yamashita T, Portale AA. Dietary phosphorus regulates serum fibroblast growth factor-23 concentrations in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 3144-9. Epub 2006 May 30.
27. Hayashibara T, Hiraga T, Sugita A, et al. Regulation of osteoclast differentiation and function by phosphate: potential role of osteoclasts in the skeletal abnormalities in hypophosphatemic conditions. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 1743-51.
28. Jones SE, Jomary C. Secreted Frizzled-related proteins: searching for relationships and patterns. *Bioessays* 2002; 24: 811-20.
29. Berndt T, Craig TA, Bowe AE, et al. Secreted frizzled-related protein 4 is a potent tumor-derived phosphaturic agent. *J Clin Invest* 2003; 112: 785-94.
30. De Beur SM, Finnegan RB, Vassiliadis J, et al. Tumors associated with oncogenic osteomalacia express genes important in bone and mineral metabolism. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 1102-10.
31. Surendran K, Schiavi S, Hruska KA. Wnt-dependent beta-catenin signaling is activated after unilateral ureteral obstruction, and recombinant secreted frizzled-related protein 4 alters the progression of renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2373-84. Epub 2005 Jun 8.
32. Carpenter TO, Ellis BK, Insogna KL, Philbrick WM, Sterpka J, Shimkets R. Fibroblast growth factor 7: an inhibitor of phosphate transport derived from oncogenic osteomalacia-causing tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 1012-20. Epub 2004 Nov 23.
33. Rowe PS, de Zoysa PA, Dong R, et al. MEPE, a new gene expressed in bone marrow and tumors causing osteomalacia. *Genomics* 2000; 67: 54-68.
34. Argiro L, Desbarats M, Glorieux FH, Ecarot B. Mepe, the gene encoding a tumor-secreted protein in oncogenic hypophosphatemic osteomalacia, is expressed in bone. *Genomics* 2001; 74: 342-51.
35. Rowe PS, Kumagai Y, Gutierrez G, et al. MEPE has the properties of an osteoblastic phosphatonin and minihibin. *Bone* 2004; 34: 303-19.
36. Jain A, Fedarko NS, Collins MT, et al. Serum levels of matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE) in normal humans correlate with serum phosphorus, parathyroid hormone and bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4158-61.
37. Bresler D, Bruder J, Mohnike K, Fraser WD, Rowe PS. Serum MEPE-ASARM-peptides are elevated in X-linked rickets (HYP): implications for phosphaturia and rickets. *J Endocrinol* 2004; 183: R1-9.
38. Jan de Beur SM, Jain A, Khan M, Fedarko NS. Matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE) fragments circulate in excess in patients with tumor-induced osteomalacia (TIO) and X-linked hypophosphatemic rickets. *J Bone Miner Res* 2004; 19: S101.
39. Rowe PS, Garrett IR, Schwarz PM, et al. Surface plasmon resonance (SPR) confirms that MEPE binds to PHEX via the MEPE-ASARM motif: a model for impaired mineralization in X-linked rickets (HYP). *Bone* 2005; 36: 33-46. Epub 2004 Nov 24.
40. Addison WN, Nakano Y, Loisel T, Crine P, McKee MD. MEPE-ASARM peptides control extracellular matrix mineralization by binding to hydroxyapatite: an inhibition regulated by PHEX cleavage of ASARM. *J Bone Miner Res* 2008; 23: 1638-49.
41. Liu S, Rowe PS, Vierthaler L, Zhou J, Quarles LD. Phosphorylated acidic serine-aspartate-rich MEPE-associated motif peptide from matrix extracellular phosphoglycoprotein inhibits phosphate regulating gene with homologies to endopeptidases on the X-chromosome enzyme activity. *J Endocrinol* 2007; 192: 261-7.
42. Jan de Beur SM. Tumor-induced osteomalacia. *JAMA* 2005; 294: 1260-7.
43. Lorenz-Depiereux B, Bastepe M, Benet-Pagès A, et al. DMP1 mutations in autosomal recessive hypophosphatemia implicate a bone matrix protein in the regulation of phosphate homeostasis. *Nat Genet* 2006; 38: 1248-50. Epub 2006 Oct 8.
44. 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: 1310-5. Epub 2006 Oct 8.

45. Topaz O, Shurman DL, Bergman R, et al. Mutations in GALNT3, encoding a protein involved in O-linked glycosylation, cause familial tumoral calcinosis. *Nat Genet* 2004; 36: 579-81. Epub 2004 May 9.
46. Benet-Pagès A, Orlik P, Strom TM, Lorenz-Depiereux B. An FGF23 missense mutation causes familial tumoral calcinosis with hyperphosphatemia. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 385-90. Epub 2004 Dec 8.
47. Ichikawa S, Imel EA, Kreiter ML, et al. A homozygous missense mutation in human KLOTHO causes severe tumoral calcinosis. *J Clin Invest* 2007; 117: 2684-91.
48. Westerberg PA, Linde T, Wikström B, Ljunggren O, Stridsberg M, Larsson TE. Regulation of fibroblast growth factor-23 in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3202-7. Epub 2007 Jun 13.
49. Shigematsu T, Kazama JJ, Yamashita T, et al. Possible involvement of circulating fibroblast growth factor 23 in the development of secondary hyperparathyroidism associated with renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2004; 44: 250-6.
50. Fliser D, Kollerits B, Neyer U, et al. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2600-8.
51. Weinstein LS, Shenker A, Gejman PV, Merino MJ, Friedman E, Spiegel AM. Activating mutations of the stimulatory G protein in the McCune-Albright syndrome. *N Engl J Med* 1991; 325: 1688-95.
52. Riminucci M, Collins MT, Fedarko NS, et al. FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting. *J Clin Invest* 2003; 112: 683-92.
53. Yamamoto T, Imanishi Y, Kinoshita E, et al. The role of fibroblast growth factor 23 for hypophosphatemia and abnormal regulation of vitamin D metabolism in patients with McCune-Albright syndrome. *J Bone Miner Metab* 2005; 23: 231-7.
54. Pande S, Ritter CS, Rothstein M, et al. FGF-23 and sFRP-4 in chronic kidney disease and post-renal transplantation. *Nephron Physiol* 2006; 104: p23-32. Epub 2006 May 10.
55. Gupta A, Winer K, Econs MJ, Marx SJ, Collins MT. FGF-23 is elevated by chronic hyperphosphatemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4489-92.
56. Prié D, Ravary V, Boccon-Gibod L, Friedlander G. Frequency of renal phosphate leak among patients with calcium nephrolithiasis. *Kidney Int* 2001; 60: 272-6.
57. Rendina D, Mossetti G, De Filippo G, Cioffi M, Strazzullo P. Fibroblast growth factor 23 is increased in calcium nephrolithiasis with hypophosphatemia and renal phosphate leak. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 959-63. Epub 2005 Dec 13.
58. Hoffman WH, Jueppner HW, Deyoung BR, O'dorisio MS, Given KS. Elevated fibroblast growth factor-23 in hypophosphatemic linear nevus sebaceous syndrome. *Am J Med Genet A* 2005; 134: 233-6.
59. White KE, Cabral JM, Davis SI, et al. Mutations that cause osteoglophonic dysplasia define novel roles for FGFR1 in bone elongation. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 361-7. Epub 2004 Dec 28.
60. Aono Y, Shimada T, Yamazaki Y, et al. The neutralization of FGF-23 ameliorates hypophosphatemia and rickets in Hyp mice. *J Bone Miner Res* 2003; 18: S16.