

Transport de phosphate, lithiase rénale et déminéralisation osseuse

Gérard Friedlander

Unité Inserm 426 « Transports épithéliaux », Faculté de Médecine Xavier Bichat, Paris.

RESUME

Notre compréhension de l'homéostasie du phosphate et de ses anomalies a progressé au cours de la dernière décennie en raison d'acquisitions majeures dans deux domaines. D'une part, l'identification moléculaire de plusieurs systèmes de cotransport sodium – phosphate appartenant à trois familles différentes et, d'autre part, la découverte de facteurs de régulation, qu'il s'agisse de protéines intracellulaires ou de peptides circulants. L'analyse phénotypique d'animaux génétiquement modifiés et de situations pathologiques

caractérisées par une anomalie qualitative ou quantitative de l'expression de l'un ou l'autre de ces acteurs permet de mieux cerner le rôle de la balance phosphatée dans la lithogénèse et la déminéralisation osseuse.

Mots-clés: phosphate, transport, lithiase, os, déminéralisation

SUMMARY

Phosphate transport, nephrolithiasis and bone demineralization

Our understanding of phosphate homeostasis and of its abnormalities has improved substantially during the last decade thanks to ma-

Recebido em: 18/11/2004

Aceite em: 17/12/2004

major contributions in two fields. On the one hand, molecular identification of sodium-phosphate cotransport systems belonging to three major families; on the other hand, discovery of regulatory factors, consisting either of intracellular proteins which interact with these cotransporters, or of circulating peptides. The phenotypic analysis of genetically modified mice and of pathological situations in humans has shed light on the key role of phosphate balance in renal stone formation and in bone demineralization.

Key-words: phosphate, transport, nephrolithiasis, bone, demineralization

INTRODUCTION

Le phosphate est le plus abondant des anions de l'organisme (plus de 20 moles chez l'homme) et joue un rôle crucial dans de nombreux processus biologiques dont la minéralisation osseuse. Chez l'homme, 85 % du phosphate est stocké dans l'os, essentiellement combiné au calcium sous la forme de cristaux d'hydroxyapatite. Quatorze pour cent du phosphate sont intracellulaires, presque exclusivement sous la forme d'esters de phosphate, et le compartiment extracellulaire (interstitium et plasma) contient moins de 1 % du phosphate de l'organisme, sous la forme de phosphate inorganique (Pi). Il existe des échanges permanents entre les trois compartiments osseux, cellulaire et extracellulaire, échanges assurés par des systèmes de transport. L'homéostasie du phosphate est, dans une large mesure, liée à celle du calcium et l'augmentation de la concentration plasmatique de l'un de ces deux ions entraîne une baisse de la concentration de l'autre. Néanmoins, la phosphatémie est moins strictement réglée que la calcémie et elle est affectée par de très

nombreux facteurs dont l'âge, le sexe, le régime alimentaire, l'équilibre acido-basique et des facteurs hormonaux. Une phosphatémie adéquate est requise pour maintenir un produit phosphocalcique qui permette une minéralisation osseuse normale. L'augmentation de ce produit dans le compartiment extracellulaire expose au risque de calcifications ectopiques, telles que la formation de lithiases rénales.

Notre connaissance de l'homéostasie du phosphate s'est récemment enrichie de deux types d'informations. D'une part, la découverte de nouveaux facteurs circulants qui modulent le transport de phosphate ; l'un d'eux, membre de la famille des facteurs de croissance fibroblastiques (FGF), le FGF23, est doué d'un puissant effet phosphaturique et son implication dans de nouvelles voies régulatrices commence à être déterminée. D'autre part, la dissection moléculaire et la caractérisation des différentes familles de cotransporteurs sodium - phosphate a permis l'identification de maladies génétiques découlant d'anomalies du métabolisme du phosphate. L'objet de cette synthèse est d'analyser ces informations récentes et de discuter la manière dont elles ont éclairé notre compréhension de la pathogénie de la formation de lithiases et de maladies associées à une déminéralisation osseuse.

De nouveaux facteurs circulants interviennent dans l'homéostasie du phosphate

Pendant de nombreuses années, l'hormone parathyroïdienne (PTH) a été la seule hormone phosphaturique connue. Ce n'est que récemment que des concentrations plasmatiques élevées de FGF23 ont été mises en évidence dans trois maladies caractérisées par une hypophosphatémie et une perte rénale de

phosphate : le rachitisme hypophosphatémique autosomique dominant (ADHR), le rachitisme hypophosphatémique lié à l'X (XLH) et l'ostéomalacie tumorale (TIO)^{1,2}. Comme cela sera discuté plus loin, il a été montré que le FGF23, comme la PTH, augmente l'excrétion urinaire de Pi et induit ainsi une hypophosphatémie. De plus, ces deux hormones agissent de façon similaire en inhibant la réabsorption de Pi par le tubule rénal.

Malgré ces similitudes, il est important de noter que d'autres effets de ces deux hormones sont diamétralement opposés. La PTH augmente la calcémie par une combinaison d'actions stimulantes sur la réabsorption rénale de calcium, sur l'activité des ostéoclastes qui assurent la résorption osseuse, sur l'activité de la 1-alpha hydroxylase et la synthèse de calcitriol, forme active de la vitamine D qui, à son tour, stimule l'absorption intestinale de calcium. La PTH a donc tendance à augmenter le rapport calcium/phosphate dans le plasma mais à épargner, dans une certaine mesure, le produit phosphocalcique. En revanche, le FGF23 ne stimule pas la synthèse de calcitriol. Au contraire, l'administration de FGF23 (ou sa production exagérée) chez des rongeurs inhibe l'expression de la 1-alpha hydroxylase tandis que l'inactivation du gène du FGF23 chez la souris entraîne une augmentation des concentrations plasmatiques de calcitriol, ce qui suggère que cette hormone inhibe la production de vitamine D. Bien que les effets du FGF23 sur l'homéostasie du calcium commencent seulement à être étudiés, il est clair que des concentrations élevées de cette hormone n'entraînent pas d'hypercalcémie et ont donc tendance à augmenter le rapport phosphate/calcium tout en abaissant le produit phosphocalcique.

Transporteurs de phosphate

Le rein occupe une place centrale dans l'homéostasie du phosphate. Chaque jour, 120 à 220 millimoles de Pi sont filtrées par les glomérules, et 100 à 170 sont réabsorbées par les tubules, en quasi-totalité par les tubules proximaux³. L'étape limitante de la réabsorption de phosphate est située à l'entrée apicale de Pi dans les cellules tubulaires. La membrane apicale de ces cellules est le siège d'un transport de Pi couplé au sodium, transport secondairement actif qui est la cible de l'action de la PTH et qui est modulé par la teneur en phosphate de l'alimentation. C'est cette entrée de Pi au pôle apical des cellules du tubule proximal qui détermine la capacité maximale du rein à réabsorber le phosphate. En retour, cette capacité maximale de réabsorption, rapportée au débit de filtration glomérulaire (Tm/GFR) est l'un des déterminants de la phosphatémie à jeun.

A ce jour, trois types de systèmes de cotransport Na-Pi ont été décrits dans le tubule proximal. Le transporteur de type I NPT1 est un transporteur non spécifique capable de transporter de nombreux anions autres que le Pi et pourrait être doté de caractéristiques de canal chlorure^{4,5}. Son rôle précis dans l'homéostasie du phosphate reste obscur.

La famille de transporteurs de type II comporte trois membres NPT2a, NPT2b et NPT2c. Le transporteur NPT2b est exprimé dans plusieurs tissus dont l'intestin grêle, le poumon, le testicule et la glande mammaire⁶. Il joue vraisemblablement un rôle majeur dans l'absorption intestinale de Pi et, au moins chez le rongeur, son expression est stimulée par le calcitriol. Le transporteur NPT2c est un cotransport électroneutre sélectivement exprimé dans la bordure en brosse des cellules tubulaires proximales. Son expression est stimulée par une

carence alimentaire en phosphate et il joue probablement un rôle important au cours de la croissance car, chez le rat, son expression est plus importante dans les premières semaines de vie qu'à l'âge adulte⁷. La part de contribution de ce transporteur à la réabsorption tubulaire du phosphate n'est pas connue. Il a été récemment rapporté que, lors de l'inactivation du transporteur NPT2a, l'expression de NPT2c augmentait sans toutefois compenser la perte de fonction du transporteur majoritaire⁸.

Le transporteur NPT2a est capital pour la réabsorption rénale du Pi et son activité est le déterminant principal de la capacité de réabsorption Tm/GFR. Son expression rénale est restreinte à la bordure en brosse des cellules tubulaires proximales. En l'absence de NPT2a, une fuite massive de Pi dans l'urine se produit et entraîne une hypophosphatémie⁹. La régulation de ce transporteur est complexe et encore imparfaitement connue. Les deux facteurs circulants hyperphosphaturants, la PTH et le FGF23, diminuent la réabsorption rénale de Pi en réduisant l'expression membranaire de NPT2a. La régulation de l'activité de NPT2a repose, dans une large mesure, sur l'insertion ou le retrait de cette protéine de la membrane apicale des cellules tubulaires³. Une protéine intracellulaire, le *Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor 1* (NHERF1) joue un rôle de premier plan dans le trafic cellulaire de NPT2a. En l'absence de NHERF1, le transporteur NPT2a est retenu dans un domaine sous-membranaire et ne peut être normalement inséré dans la membrane plasmique. L'inactivation ciblée du gène de NHERF1 chez la souris produit un phénotype similaire à celui des souris NPT2a^{-/-10}. Bien qu'une interaction directe de NHERF1 avec les 3 derniers acides aminés du NPT2a est été démontrée, le mécanisme exact par lequel NHERF1 permet l'insertion membranaire du NPT2a reste à élucider.

NPT2a est également exprimé dans la membrane basolatérale des ostéoclastes actifs^{11, 12}. Dans ce type de cellules, le transporteur contribue probablement à la capture de phosphate bien que son rôle physiologique soit encore mal connu. Une interaction entre NHERF1 et NPT2a a été rapportée dans les ostéoclastes mais sa nature semble différente de celle mise en œuvre dans les cellules rénales¹². L'impact de l'inactivation de NHERF1 sur le fonctionnement de NPT2a dans les ostéoclastes n'a pas encore été étudié.

La dernière famille de transporteurs Na-Pi (type III) est à ce jour composée de deux membres, PiT1 et PiT2. Ces deux protéines, initialement identifiées comme des récepteurs de rétrovirus (références dans¹³) permettant l'amarrage de ceux-ci aux cellules eucaryotes, sont exprimés dans de très nombreux types cellulaires dont les cellules rénales, les ostéoblastes, ostéoclastes et chondrocytes^{12, 14}. Peu d'informations sont actuellement disponibles sur leur rôle dans l'homéostasie du phosphate. L'expression et l'activité de PiT1 et de PiT2 sont influencées par la concentration extracellulaire en phosphate. Ils jouent probablement un rôle majeur dans le maintien de la concentration intracellulaire de phosphate et l'approvisionnement des cellules en cet anion à des fins de métabolisme^{14,15}.

Formation de lithiases et transporteurs sodium - phosphate

La cristallisation spontanée, préluce indispensable à la formation de calculs, survient dans l'urine lorsque la limite supérieure de sursaturation est dépassée. La formation de cristaux se produit passivement dans des sites de nucléation adéquats. Le rôle de la sursaturation du phosphate de calcium dans la lithogénèse

est documenté depuis de nombreuses années. L'hypercalciurie est l'anomalie la plus fréquemment rencontrée chez les sujets atteints de lithiases calciques. C'est la raison pour laquelle l'attention a été accaparée par le rôle de l'hypercalciurie dans la lithogénèse alors que l'état des connaissances sur l'impact de la concentration urinaire de phosphate est beaucoup moins avancé. Des études, menées par Bushinski et coll. sur des souches de rats génétiquement prédisposés aux lithiases hypercalciuriques ont bien montré l'importance de l'excrétion urinaire de phosphate dans ce phénomène¹⁶. Ces travaux ont montré que si l'excrétion urinaire de phosphate est réduite en alimentant les animaux avec un régime pauvre en phosphate, la survenue de lithiases est prévenue malgré l'exacerbation de l'hypercalciurie. Ce rôle majeur du phosphate dans la formation de lithiases calciques est encore affirmé par des études montrant que la formation de lithiases calciques (y compris celles composées d'oxalate de calcium) est déclenchée par la précipitation de cristaux d'apatite (phosphate de calcium) dans la branche fine de l'anse de Henle^{17, 18}, segment du néphron où la concentration de l'urine est la plus élevée. Lorsque ces cristaux atteignent ensuite la papille, l'incorporation d'oxalate dans ces calculs naissants augmente leur taille.

Ces observations suggèrent que l'augmentation de l'excrétion urinaire de phosphate, secondaire à une réduction de la capacité tubulaire de réabsorption, puisse être un facteur de risque indépendant de formation de lithiases. En accord avec cette hypothèse, nous avons montré que le Tm_{Pi}/GFR est significativement plus bas chez des sujets atteints de lithiases que dans un groupe de sujets témoins qui en sont exempts¹⁹. En raison de concentrations normales de PTH chez ces sujets lithiasiques, un déficit intrinsèque de la réabsorption de Pi a

été évoqué. La confirmation de cette hypothèse a été apportée à la fois chez l'animal d'expérience et chez l'homme. D'une part, les souris $NPT2a^{-/-}$ ont une excrétion fractionnelle de Pi augmentée, une hypercalciurie et développent des lithiases rénales^{9, 20}. D'autre part, nous avons identifié une mutation hétérozygote du gène $NPT2a$ chez un homme de 37 ans présentant un tableau de fuite rénale de phosphate avec hypophosphatémie, hypercalciurie et lithiases récidivantes²¹. La mutation, $phe48arg$ dans l'exon 3, substitue un acide aminé hautement conservé dans les gènes $NPT2a$ des vertébrés. Cette mutation n'est retrouvée chez aucun des 120 sujets témoins analysés, ce qui indique qu'il ne s'agit pas d'un polymorphisme fréquent. L'injection d'ARN muté dans des ovocytes de *Xenopus* génère une capture de Pi et un courant plus faibles que l'injection d'ARN normal. De plus, la co-injection d'ARN normal et muté entraîne une capture de Pi plus faible que celle induite par la seule injection d'ARN « sauvage », ce qui indique que le transporteur muté se comporte comme un dominant négatif. Cette interaction entre transporteur normal et muté pourrait expliquer l'absence de phénotype des souris hétérozygotes $NPT2a^{+/-}$. Chez ces animaux, l'absence de lithiases pourrait également être due à des concentrations élevées d'inhibiteurs physiologiques de la cristallisation, telle l'ostéopontine²⁰. Il est en effet remarquable que, chez les rongeurs, l'osmolalité urinaire (et donc la pression osmotique dans l'anse de Henle) est beaucoup plus élevée que chez l'homme, atteignant 5000 mOsm/kg d'eau chez la souris alors qu'elle ne dépasse pas 1200 mOsm/kg d'eau chez l'homme. Il est donc vraisemblable que, chez ces espèces, des mécanismes efficaces d'inhibition de la lithogénèse ont été développés. Nous avons par la suite identifié deux autres mutations dans la région codante du gène $NPT2a$ chez l'homme,

toutes deux associées au même phénotype que le premier sujet. Néanmoins, des mutations hétérozygotes de ce gène peuvent également donner lieu à d'autres phénotypes. Nous avons identifié une mutation (met147val dans l'exon5) chez une femme et sa fille; l'hypophosphatémie est ici associée à une hyperphosphaturie et à une déminéralisation osseuse, mais pas à la survenue de lithiases²¹.

Il est important de noter que la fuite urinaire de phosphate et l'hyperphosphaturie, telle qu'elle est observée chez les souris NPT2a^{-/-} et chez les sujets atteints de mutations du gène NPT2a, ne constitue pas en elle-même un élément suffisant pour provoquer la formation de lithiases. Il déclenche cependant une série d'évènements qui contribuent à la lithogénèse : l'hypophosphatémie stimule la synthèse de calcitriol; celui-ci augmente l'absorption intestinale de phosphate et de calcium tout en freinant la synthèse de PTH. Ces éléments aboutissent à pérenniser la phosphaturie et à augmenter la calciurie, créant ainsi les conditions locales de précipitation urinaire de phosphate de calcium. La place essentielle du calcitriol dans cette cascade est démontrée par le fait que l'inactivation du gène de la 1-alpha hydroxylase chez des souris NPT2a^{-/-} prévient complètement la survenue de lithiases²². Chez ces souris NPT2a^{-/-}, l'augmentation de la teneur en phosphate de l'alimentation a pour effet d'augmenter la phosphatémie, de normaliser la concentration de calcitriol, de prévenir la survenue d'une hypercalciurie et de lithiases²². Nous avons observé que chez les sujets lithiasiques avec une fuite rénale de phosphate ont des concentrations plasmatiques de calcitriol et une calciurie supérieure à celles de sujets témoins¹⁹.

Dans des conditions pathologiques où une réduction de la réabsorption rénale de phosphate n'est pas associée à une augmentation des concentrations sériques de calcitriol, la forma-

tion de lithiases n'est pas observée. C'est le cas chez les patients atteints de ADHR, XLHR et TIO qui ont une fuite rénale de phosphate et une hypophosphatémie mais ne développent pas de lithiases (sauf à ce qu'un traitement intempestif ou mal conduit avec des métabolites de la vitamine D ait été administré). Chez ces patients, l'hypophosphatémie est associée à des concentrations plasmatiques de calcitriol normales ou basses. L'excrétion urinaire de phosphate reste dans les valeurs normales et la calciurie est habituellement basse. Plusieurs souches de souris avec des concentrations circulantes élevées de FGF23 ont été générées. La phosphaturie y est élevée, entraînant une hypophosphatémie^{23, 24}. Ces animaux ont des concentrations de calcitriol normales et ne développent pas de lithiases rénales.

Ces données nouvelles, qui améliorent notre compréhension, de la lithogénèse, ont d'importantes conséquences pour la prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients lithiasiques. Lorsqu'il existe une hypercalciurie, il est important d'établir si celle-ci est secondaire à une fuite rénale de phosphate ou s'il s'agit d'un défaut primaire. Dans le premier cas, c'est le contrôle de la fuite urinaire de phosphate et le traitement de l'hypophosphatémie qui constitue la priorité thérapeutique.

Déminéralisation osseuse et transporteurs sodium – phosphate

La minéralisation osseuse nécessite des concentrations extracellulaires adéquates de calcium et de phosphate et il est prévisible que les anomalies de l'homéostasie du phosphate, qu'elles soient la conséquence d'anomalies des transporteurs ou des facteurs de régulation, ont des conséquences sur la minéralisation. Deux remarques préliminaires doivent être faites :

d'une part, la minéralisation osseuse peut être évaluée grâce à plusieurs techniques (radiographie conventionnelle, ultrasons, photodensitométrie, histologie) qui fournissent des renseignements complémentaires mais pas nécessairement comparables; d'autre part, la minéralisation osseuse est le résultat d'activités cellulaires complexes et hautement contrôlées qui peuvent varier en fonction du type d'os, trabéculaire ou compact, du stade de croissance ou du statut hormonal.

Minéralisation osseuse et dysfonctionnement des transporteurs NPT2a

Les souris chez lesquelles le gène NPT2a a été invalidé présentent, à l'état homozygote, un phénotype osseux complexe qui évolue avec l'âge. Les données histomorphométriques indiquent que la formation de l'os est soit normale soit augmentée, alors que le nombre d'ostéoclastes est en permanence diminué⁹. Néanmoins; il n'a pas été rapporté d'anomalies majeures de la minéralisation osseuse et la vitesse d'apposition d'os calcifié semble normale. Deux facteurs peuvent rendre compte de l'absence d'anomalies osseuses majeures en dépit de l'hypophosphatémie : l'augmentation du calcitriol plasmatique permet de maintenir un produit phosphocalcique compatible avec une minéralisation normale au prix d'une élévation de la calcémie ; d'autre part, la diminution du nombre d'ostéoclastes actifs est un facteur d'épargne de l'os qui pourrait découler de l'hypoparathyroïdie observée chez ces animaux. Quant à l'impact du défaut d'expression du transporteur NPT2a sur la fonction des ostéoclastes qui l'expriment habituellement, celui-ci reste à déterminer.

A l'état homozygote, l'invalidation du gène

NHERF1 entraîne une hyperphosphaturie qui aboutit à abaisser la phosphatémie. Conséquences d'un défaut d'expression du transporteur NPT2a dans les bordures en brosse rénales. Cependant, à la différence des souris NPT2a^{-/-}, les souris NHERF1^{-/-} ont un phénotype osseux sévère, présent dès la naissance, plus sévère chez les femelles que chez les mâles, et caractérisé par une diminution de la densité osseuse, du contenu minéral de l'os, et par la survenue fréquente de fractures spontanées¹⁰. Ce phénotype sévère n'a pas encore reçu d'explication. Les souris NHERF1^{-/-} ont une calcémie normale et une hypercalciurie. Les valeurs plasmatiques de PTH et de calcitriol ne sont pas connues.

Comme cela a été mentionné plus haut, une mutation hétérozygote du gène NPT2a avec perte de fonction a été identifiée chez une femme et sa fille atteintes toutes deux d'hypophosphatémie, d'une fuite urinaire de phosphate et d'une déminéralisation osseuse sévère quantifiée par ostéodensitométrie. L'expression de cette mutation dans des ovocytes de Xénope démontre un défaut de fonction du transporteur NPT2a qui n'est pas plus sévère que celui des mutations à l'origine d'un tableau de lithiases sans déminéralisation. Cela suggère que l'hypophosphatémie n'est pas, en elle-même, suffisante pour expliquer les anomalies osseuses associées à des mutations ou à des délétions de NPT2a ou de NHERF1. Il reste beaucoup à faire pour élucider les interactions fines entre ces deux protéines, d'éventuels autres transporteurs ou d'autres protéines régulatrices dans les cellules osseuses, interactions qui peuvent être modulées par l'âge, le sexe, ou le type de mutations.

Minéralisation osseuse et transporteurs de type III

La présence de PiT1 et de PiT2 sur les sites d'ostéoformation suggère que ces transporteurs puissent jouer un rôle actif dans la minéralisation de la trame collagène¹². De plus, des données récentes indiquent que PiT1 peut induire l'expression de gènes dans les ostéoblastes et les chondrocytes, et peut induire l'apoptose dans ces deux types de cellules²⁵. Il reste à savoir si ces deux rôles sont liés et si des anomalies de PiT1 ou de PiT2 ont pour résultat des défauts de minéralisation osseuse *in vivo*. Des résultats expérimentaux, obtenus dans un modèle *in vitro*, suggèrent que PiT1 puisse être impliqué dans la calcification de cellules musculaires lisses vasculaires en présence de concentrations extracellulaires élevées de phosphate²⁶.

Minéralisation osseuse et anomalies de l'expression de NPT2a dues à un défaut de régulation hormonale

La PTH et le FGF23, en inhibant l'expression de NPT2a dans les cellules tubulaires rénales, entraînent une hypophosphatémie. Bien que des concentrations plasmatiques élevées de ces deux hormones soient toujours associées à un défaut de minéralisation osseuse, les anomalies rencontrées sont différentes pour chacune d'elles. L'activation chronique du récepteur PTHR1, qu'elle soit due à une stimulation par des concentrations élevées de PTH ou à une mutation qui active de manière constitutive le récepteur (chondrodysplasie métaphysaire de Jansen), entraîne une minéralisation anormale associée à une activation des ostéoclastes et à une remodelage osseux accéléré (qui culmine dans l'ostéite fibreuse kystique). Au contraire, des concentrations élevées de FGF23 produi-

sent un tableau osseux où les traits de rachitisme et d'ostéomalacie prédominent car la résorption ostéoclastique et le remodelage osseux ne sont pas augmentés autant qu'en situation d'excès de PTH, et parce que les concentrations de calcitriol sont basses^{23, 24}. Il est intéressant de noter que l'inactivation du gène du FGF23 chez la souris qui entraîne, à l'état homozygote, une hyperphosphatémie due à une augmentation de l'expression rénale de NPT2a, est aussi accompagnée d'un défaut de minéralisation osseuse²⁷. Il est possible que les anomalies osseuses induites par un excès ou un déficit de FGF23 soient, pour partie, secondaires à des perturbations du produit phosphocalcique dont la valeur se situerait en dehors de la zone optimale pour la minéralisation. Ce champ est néanmoins encore largement inexploré.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été possible grâce à un soutien financier de l'Inserm, de l'Université Paris 7, et du Laboratoire de Recherches Physiologiques.

Bibliographie

1. TENENHOUSE H.S., SABBAGH Y. - Novel phosphate-regulating genes in the pathogenesis of renal phosphate wasting disorders. *Pflugers Arch* 2002; 444:317-26.
2. QUARLES L.D. - FGF23, PHEX, and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285:E1-9.
3. MURER H., HERNANDO N., FORSTER I., BIBER J. - Proximal tubular phosphate reabsorption: molecular mechanisms. *Physiol Rev* 2000; 80:1373-409.
4. BIBER J., CUSTER M., WERNER A., KAISLING B., MURER H. - Localization of NaPi-1, a Na/Pi cotransporter, in rabbit kidney proximal tubules. II. Localization by immunohistochemistry. *Pflugers Arch* 1993; 424:210-5.
5. BUSCH A.E., SCHUSTER A., WALDEGGER S., et al. - Expression of a renal type I sodium/phosphate transporter (NaPi-1) induces a conductance in *Xenopus* oocytes permeable for organic and inorganic anions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93:5347-51.

6. HILFIKER H., HATTENHAUER O., TRAEBERT M., et al. - Characterization of a murine type II sodium-phosphate cotransporter expressed in mammalian small intestine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:14564-9.
7. SEGAWA H., KANEKO I., TAKAHASHI A., et al. - Growth-related renal type II Na/Pi cotransporter. *J Biol Chem* 2002; 277:19665-72.
8. TENENHOUSE H.S., MARTEL J., GAUTHIER C., SEGAWA H., MIYAMOTO K. - Differential effects of Npt2a gene ablation and X-linked Hyp mutation on renal expression of Npt2c. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285:F1271-8.
9. BECK L., KARAPLIS A.C., AMIZUKA N., et al. - Targeted inactivation of Npt2 in mice leads to severe renal phosphate wasting, hypercalciuria, and skeletal abnormalities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95:5372-7.
10. SHENOLIKAR S., VOLTZ J.W., MINKOFF C.M., WADE J.B., WEINMAN E.J. - Targeted disruption of the mouse NHERF-1 gene promotes internalization of proximal tubule sodium-phosphate cotransporter type IIa and renal phosphate wasting. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99:11470-5.
11. GUPTA A., GUO X.L., ALVAREZ U.M., HRUSKA K.A. - Regulation of sodium-dependent phosphate transport in osteoclasts. *J Clin Invest* 1997; 100:538-49.
12. KHADEER M.A., TANG Z., TENENHOUSE H.S., et al. - Na⁺-dependent phosphate transporters in the murine osteoclast: cellular distribution and protein interactions. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 284:C1633-44.
13. SALAUN C., RODRIGUES P., HEARD J.M. - Transmembrane topology of PiT-2, a phosphate transporter-retrovirus receptor. *J Virol* 2001; 75:5584-92.
14. TENENHOUSE H.S., ROY S., MARTEL J., GAUTHIER C. - Differential expression, abundance, and regulation of Na⁺-phosphate cotransporter genes in murine kidney. *Am J Physiol* 1998; 275:F527-34.
15. KAVANAUGH M.P., MILLER D.G., ZHANG W., et al. - Cell-surface receptors for gibbon ape leukemia virus and amphotropic murine retrovirus are inducible sodium-dependent phosphate symporters. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91:7071-5.
16. BUSHINSKY D.A., PARKER W.R., ASPLIN J.R. - Calcium phosphate supersaturation regulates stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2000; 57:550-60.
17. BUSHINSKY D.A. - Nephrolithiasis: site of the initial solid phase. *J Clin Invest* 2003; 111:602-5.
18. EVAN A.P., LINGEMAN J.E., COE F.L., et al. - Randall's plaque of patients with nephrolithiasis begins in basement membranes of thin loops of Henle. *J Clin Invest* 2003; 111:607-16.
19. PRIE D., RAVERY V., BOCCON-GIBOD L., FRIEDLANDER G. - Frequency of renal phosphate leak among patients with calcium nephrolithiasis. *Kidney Int* 2001; 60:272-6.
20. CHAU H., EL-MAADAWY S., MCKEE M.D., TENENHOUSE H.S. - Renal calcification in mice homozygous for the disrupted type IIa Na/Pi cotransporter gene Npt2. *J Bone Miner Res* 2003; 18:644-57.
21. PRIE D., HUART V., BAKOUH N., et al. - Nephrolithiasis and osteoporosis associated with hypophosphatemia caused by mutations in the type 2a sodium-phosphate cotransporter. *N Engl J Med* 2002; 347:983-91.
22. TENENHOUSE H.S., GAUTHIER C., CHAU H., ST-ARNAUD R. - {alpha}-Hydroxylase gene ablation and Pi supplementation inhibit renal calcification in mice homozygous for the disrupted Na/Pi cotransporter gene Npt2a. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003.
23. SHIMADA T., MIZUTANI S., MUTO T., et al. - Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:6500-5.
24. LARSSON T., MARSELL R., SCHIPANI E., et al. - Transgenic mice expressing Fibroblast Growth Factor 23 under the control of the {alpha}1(I) collagen promoter exhibit growth retardation, osteomalacia and disturbed phosphate homeostasis. *Endocrinology* 2004.
25. MANSFIELD K., RAJPUROHIT R., SHAPIRO I.M. - Extracellular phosphate ions cause apoptosis of terminally differentiated epiphyseal chondrocytes. *J Cell Physiol* 1999; 179:276-86.
26. GIACHELLI C.M. - Vascular calcification: in vitro evidence for the role of inorganic phosphate. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14:S300-4.
27. SHIMADA T., KAKITANI M., YAMAZAKI Y., et al. - Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest* 2004; 113:561-8.