Гипофосфатазия: клиническое описание трех случаев заболевания с молекулярно-генетической верификацией диагноза

К.С. КУЛИКОВА¹*, к.м.н. Н.Ю. КАЛИНЧЕНКО¹, проф. Е.Н. СИБИЛЕВА², к.м.н. Е.В. ВАСИЛЬЕВ¹, к.х.м. В.М. ПЕТРОВ¹, д.м.н. А.Н. ТЮЛЬПАКОВ¹

¹ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва; ²ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет», Архангельск, Россия

Гипофосфатазия — редкое наследственное рахитоподобное заболевание, обусловленное снижением активности тканенеспецифической щелочной фосфатазы, кодируемой геном *ALPL*. Различают несколько форм данного заболевания в зависимости от тяжести течения и возраста манифестации. Основными клиническими признаками гипофосфатазии являются рахитические деформации костей скелета, мышечная гипотония и дыхательная недостаточность в раннем детском возрасте, задержка физического и моторного развития, раннее выпадение зубов. В зрелом возрасте наблюдаются стресс-переломы, мышечные боли, кальцификация связок и суставов. Биохимическими маркерами патологии служат сниженный уровень щелочной фосфатазы, повышенное содержание фосфоэтанолamina в моче; при тяжелых формах заболевания — гиперкальциемия, гиперфосфатемия, снижения уровня паратгормона. Приведено клиническое описание пациентов с гипофосфатазией различной тяжести, у которых впервые в России проведена молекулярно-генетическая верификация диагноза.

Ключевые слова: рахитоподобное заболевание, гипофосфатазия, *ALPL*, щелочная фосфатаза, неорганические пирофосфаты, фосфоэтанолamin.

Hypophosphatasia: the clinical description of 3 cases of the disease with the molecular-genetic verification of the diagnosis

K.S. KULIKOVA¹, N.YU. KALINCHENKO¹, E.N. SIBILEVA², E.V. VASIL'EVA¹, V.M. PETROV¹, A.N. TUL'PAKOV¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia; ²Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

Hypophosphatasia is a rare hereditary rickets-like disease resulting from the impaired activity of tissue-specific alkaline phosphatase encoded by the *ALPL* gene. A few forms of this pathology are distinguished depending on the severity of its clinical picture and the age at which its symptoms begin to manifest themselves. The main clinical signs of the disease are skeletal deformations, muscular hypotonia, and respiratory insufficiency in the early childhood as well as the retardation of the physical and motor development and early loss of the teeth. In the mature age, such patients suffer from stress fractures, muscle pain, calcification of the ligaments and joints. The biochemical markers of hypophosphatasia are the low blood alkaline phosphatase level and the high urinary phosphoethanolamine level. Also, the severe forms of the disease are associated with hypercalcemia, hyperphosphatemia, and the low parathormone level. The authors describe the patients presenting with Hypophosphatasia of different severity in whom the molecular-genetic verification of the diagnosis was undertaken for the first time in this country.

Keywords: rickets-like disease, hypophosphatasia, *ALPL* gene, alkaline phosphatase, inorganic pyrophosphates, phosphoethanolamine.

doi: 10.14341/probl201561337-42

Гипофосфатазия (ГФ, OMIM 146300, 241500, 241510) — редкое наследственное нарушение метаболизма, в основе которого лежит снижение активности фермента тканенеспецифической щелочной фосфатазы (ЩФ), кодируемой геном *ALPL*. Клиническая картина и степень тяжести ГФ варьируют в широких пределах; четкой корреляции между генотипом и фенотипом не выявлено. В зависимости от возраста манифестации заболевания и тяжести симптомов различают шесть клинических форм: перинатальную, доброкачественную пренатальную, инфантильную, детскую, взрослую, одонтогипофосфатазию (табл. 1).

Диагноз ГФ впервые был установлен D. Rathbun [1] на основании выраженных рахитических изме-

нений костей у ребенка и парадоксально низкого уровня ЩФ.

Распространенность тяжелых форм ГФ (перинатальная и инфантильная) оценивается в 1 на 100 000 новорожденных (в основном англосаксонского происхождения); эти формы наиболее распространены в изолированной популяции меннонитов Канады, где частота встречаемости тяжелых форм составляет 1 на 2500 новорожденных, что, возможно, объясняется «эффектом основателя гена» [2, 3]. Более мягкий вариант заболевания (взрослая форма) встречается с частотой примерно 1: 6000 человек [3]. В России распространенность данного заболевания неизвестна.

Таблица 1. Клинические формы гипофосфатазии

Клиническая форма	Тип наследования	Симптомы	Летальность
Перинатальная	Аутосомно-рецессивный	Выраженные деформации скелета Полное отсутствие минерализации костей	100%
Пrenатальная доброкачественная	Аутосомно-доминантный	Выраженные деформации скелета Улучшение структуры костей после рождения	90—100%
Инфантильная (с 1—6 мес)	Аутосомно-рецессивный	Гипотония Недоразвитие грудной клетки (пневмония, дыхательная недостаточность). Краниостеноз Судороги	50% к 1-му году
Детская (после 6—12 мес)	Аутосомно-рецессивный Аутосомно-доминантный	Позднее начало ходьбы Рахитоподобные деформации скелета «Переваливающаяся» (или «утиная») походка Преждевременное выпадение молочных зубов	Прогноз благоприятный
Взрослая	Аутосомно-рецессивный Аутосомно-доминантный	Стресс-переломы — остеоартропатии (в том числе хондрокальциноз) Боль, слабость в мышцах Раннее выпадение зубов	Прогноз благоприятный
Одонтогипофосфатазия	Аутосомно-рецессивный Аутосомно-доминантный	Гипоплазия эмали Раннее выпадение зубов	Прогноз благоприятный

Ранее в отечественной литературе [4] сообщалось о пренатальной диагностике ГФ на сроке 37 нед гестации у плода с выраженной деминерализацией скелета. Нами впервые в России проведено молекулярно-генетическое подтверждение диагноза у пациентов с ГФ различной тяжести, у 3 детей выявлены составные гетерозиготные мутации гена *ALPL*.

Материал и методы

Проведена оценка анамнеза, клинических данных пациентов, анализ лабораторных и рентгенографических показателей.

Для молекулярно-генетического анализа применялся метод высокопроизводительного параллельного секвенирования. Использовалась панель праймеров Ion Ampliseq Custom DNA Panel («Life technologies», США), охватывающая кодирующие области следующих генов: *FGF23*, *PTHRI*, *CASR*, *SLC34A1*, *ATP6V1B1*, *SLC9A3R1*, *SLC34A3*, *CYP24A1*, *ATP6V0A4*, *GALNT3*, *ALPL*, *PHEX*, *CYP27B1*, *LRP5*, *DMP1*, *VDR*, *KL*, *CYP2R1*, *ENPP1*, *CLCN5*, *CLCNKB*, *SLC2A2*. Подготовка библиотек и эмульсионная ПЦР проводились в соответствии с рекомендациями производителя. Секвенирование осуществлялось на секвенаторе PGM (Ion Torrent, «Life Technologies», США). Биоинформатическая обработка результатов секвенирования проводилась с помощью программного модуля Torrent Suite 4.2.1 (Ion Torrent, «Life Technologies», США) и пакета программ Annovar (версия 2014Nov12) (<http://www.openbioinformatics.org/annovar/>) [Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: Functional annotation of genetic variants from next-generation sequencing data *Nucleic Acids Research*, 38:e164, 2010]. Выявленные

изменения в гене *ALPL* были подтверждены при секвенировании по Сэнгеру.

Результаты

Пациент 1. Г.М., мальчик, 4 года, рожден на 39—40-й неделе гестации с нормальным ростом и массой тела (53 см, 3800 г) от здоровых родителей, состоящих в неродственном браке. С рождения отмечалась выраженная гипотония, в результате чего ребенок отставал в моторном развитии: поздно начал держать голову и сидеть. Ходить «утиной» походкой мальчик начал с 1 года 7 мес; отмечалась быстрая утомляемость и боли в ногах при ходьбе. В возрасте 2 лет у ребенка выпали передние молочные зубы. В связи с отставанием в росте в 3 года с целью исключения соматотропной недостаточности проведена СТГ-стимуляционная проба с клофелином; результат нормальный (максимальный выброс СТГ 16,1 нг/мл).

При обследовании в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» (ЭНЦ) в возрасте 4 лет отмечалось отставание в физическом развитии: рост 91,3 см ($SD_{Sp.} = -2,66$), масса тела 11,3 кг ($SD_{IMT} = -2,1$) (рис. 1). Обращали на себя внимание скафоидная форма черепа за счет краниостеноза, плосковальгусная установка стоп, «переваливающаяся» походка, быстрая утомляемость, в связи с чем ребенок чаще находился в коляске. При биохимическом анализе крови был двукратно обнаружен низкий уровень ЩФ — до 62,8 Ед/л (норма 180—720 Ед/л), на фоне нормальных показателей кальция, витамина B_6 , умеренном повышении содержания фосфора и незначительно сниженном уровне паратгормона (табл. 2). При рентгенологическом исследовании выявлено значительное раз-

Таблица 2. Биохимические параметры сыворотки крови пациентов

Параметр	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3
ЩФ, Ед/л (норма 180—720)	68,4	21	40
PO_4^{2-} , ммоль/л (норма 1,45—1,78)	2,0	2,0	Нет данных
Са общ., ммоль/л (норма: 2,1–2,55)	2,3	2,38	Нет данных
Паратгормон, пг/мл (норма 15—65)	11,2	Нет данных	Нет данных

Рис. 1. График роста пациента 1.

ряжение костной ткани в области метафизов локтевой и лучевой костей (рис. 2).

В качестве наиболее вероятной причины раннего выпадения молочных зубов, нарушения походки, низкого уровня ЩФ крови, рахитических изменений структуры костей был рассмотрен диагноз ГФ. Данный диагноз был подтвержден результатами молекулярно-генетического анализа гена *ALPL*. Выявлено наличие 2 гетерозиготных мутаций: с.340G>A p.A114T (замена аланина на треонин в позиции 114), и с.571G>A p.E191K (замена глутаминовой кислоты на лизин в позиции 191). Выявленные мутации были описаны ранее [1, 5—7].

Пациент 2. В.М., девочка, 8 лет. Данный клинический случай постановки диагноза «ГФ, инфан-

Рис. 2. Рентгенограмма костей верхних конечностей пациента 1. Выраженное разрежение зон метафизов лучевых и локтевых костей.

тильная форма» ребенку 2 года 8 мес на основании клинической картины был описан ранее [8]. При обследовании в ЭНЦ у девочки 8 лет обнаружены дефицит массы тела: масса тела 17,2 кг ($\text{SDS}_{\text{ИМТ}} = -3,24$), рост 117,1 см ($\text{SDSp} = -1,75$) (рис. 3), долихоцефалическая форма черепа, выраженная деформация грудной клетки, рахитические «браслетки» на руках и варусная деформация бедренных костей. Содержание ЩФ в крови было значительно сниженным (до 21 Ед/л), уровень фосфора умеренно повышен (см. табл. 2). При рентгенологическом исследовании выявлены характерные рахитические изменения структуры костей верхних и нижних конечностей: неровность метафизов, узурация эпифизов. Молекулярно-генетический анализ выявил наличие составной гетерозиготной мутации гена *ALPL*: с.253A>C p.T85P с заменой треонина на пролин в позиции 85 и с.571G>A p.E191K. Вторая мутация оказалась аналогичной таковой у первого пациента.

Пациент 3. В.М., девочка, 3 года. На 24-й неделе гестации при УЗИ были выявлены признаки скелетной дисплазии трубчатых костей. Ребенок родился в срок с нормальными росто-весовыми показателями (масса тела 3465 г, длина тела 52 см), без признаков нарушения дыхания и деформаций скелета. На первом году жизни отмечалось выраженное отставание в росте (в 1 год рост 66 см, $\text{SDSp} = -3,0$) (рис. 4), задержка моторного развития ребенка — начала сидеть с 9 мес, ходить с 18 мес. Первые зубы прореза-

Рис. 3. График роста пациента 2.

Рис. 4. График роста пациента 3.

лись в 9 мес, однако с 14 мес выпали два нижних резца, а в 2 года 8 мес — верхние резцы. С 1,5 лет наблюдались частые респираторно-вирусные заболевания с пневмонией. При обследовании в возрасте 3 лет: масса тела 10,5 кг ($SDS_{IMT} = -2,31$), рост 88 см ($SDS = -1,31$), вальгусная деформация нижних конечностей. В крови низкий уровень ЩФ (до 40 Ед/л). При рентгенологическом исследовании определялись множественные разнокалиберные участки разрежения костной ткани по типу «матового стекла» в зонах метафизов костей предплечий и костей голени, а также булавовидные расширения передних отрезков ребер. Молекулярно-генетический анализ показал наличие составной гетерозиготной мутации гена *ALPL*: с.571G>A р.Е191K (аналогичной таковой в двух первых случаях), и с.1166C>T р.Т389I (замена треонина на изолейцин в позиции 389).

Обсуждение

Термином ЩФ обозначают группу ферментов, расположенных на мембране клеток и принимаю-

щих участие в расщеплении эфиров фосфорной кислоты (фосфогидролазы). Источниками различных изоформ ЩФ являются костная ткань, печень, почки, плацента (ALPP), слизистая оболочка тонкого кишечника (ALPI), эмбриональная ткань. Ген *ALPL* (OMIM 171760) кодирует тканенеспецифическую ЩФ (TNSALP), экспрессирующуюся в печени, костях и почках [9]. Ген расположен на коротком плече хромосомы 1(1p36.1—p.34) и состоит из 12 экзонов. Основная функция TNSALP сводится к гидролизу монофосфатных эфиров, включая неорганические пирофосфаты (PPI), фосфоэтаноламин (PEA), пиридоксаль-5-фосфат, которые являются физиологическими ингибиторами образования кристаллов гидроксиапатита костного матрикса. Клиническая картина заболевания обусловлена нарушением минерализации костной ткани вследствие накопления пирофосфатов в крови из-за снижения ферментативной активности TNSALP. Перинатальная форма ГФ характеризуется практически полным отсутствием минерализации костей скелета, наличием остеохондральных шпор, выступающих через кожу предплечий и ног, значительным

укорочением длинных трубчатых костей, судорожным синдромом (витамин В6-зависимые судороги). Данная форма имеет высокий риск летальности внутриутробно или в первые месяцы жизни из-за выраженной дыхательной недостаточности вследствие гипоплазии легких и биомеханических нарушений акта дыхания из-за рахитических изменений грудной клетки. В редких случаях у пациентов с доброкачественной пренатальной формой происходит спонтанное улучшение минерализации.

Инфантильная форма ГФ манифестирует с первого полугодия жизни рахитическими деформациями грудной клетки и выраженной мышечной гипотонией, которые обуславливают нарушение дыхания, частые воспалительные процессы в легких, задержку моторного развития. Гиперкальциемия является причиной плохой прибавки в массе тела, рвоты, склонности к запорам, жажды, полиурии, раннего закрытия большого родничка и швов черепа, что приводит к краниостенозу, повышению внутричерепного давления. Гиперкальциурия способствует развитию нефрокальциноза. Летальность при данной форме составляет до 50% к первому году жизни.

Детская и взрослая формы имеют более благоприятное течение и характеризуются рахитическими изменениями скелета, низким ростом, болью в мышцах и связках, краниостенозом, формированием долихоцефалической формы черепа, ранним выпадением молочных (до 5 лет) и постоянных зубов, изменением походки («переваливающаяся» походка), хондропатиями или псевдопереломами в результате остеопении и отложения пирофосфата кальция в связках и суставах в зрелом возрасте. Биохимическими маркерами патологии служат умеренно или резко сниженный уровень щелочной фосфатазы, повышение концентрации пиридоксаль-5-фосфата в крови и фосфоэтаноламина в моче; в раннем детском возрасте можно обнаружить гиперкальциемию, гиперфосфатемию, снижение уровня паратгормона.

Для пациентов с наиболее легкой формой (одонтогипофосфатазия) характерно только раннее выпадение зубов или развитие частого кариеса из-за увеличения камер пульпы или корневых каналов, однако биохимические маркеры заболевания остаются такими же.

К настоящему времени описано более 280 мутаций гена *ALPL* [10], большинство из которых составляют миссенс-мутации (до 80%), реже небольшие делеции гена (10,5%), нарушения сплайсинга (6%) и нонсенс-мутации (4%). Наиболее тяжелые формы наследуются аутосомно-рецессивным путем, при более легких формах может иметь место и доминантный тип наследования [6, 7, 11]. У трансгенных мышей с гомозиготной мутацией гена *ALPL* активность ЩФ практически полностью отсутство-

вала (менее 1%), а у гетерозигот снижена на 50% [12].

Интересно, что выявленная мутация p.A114T гена *ALPL* у первого пациента оказалась аналогичной той, что была обнаружена в гетерозиготном состоянии у матери мальчика, которому впервые в мире был установлен диагноз ГФ [1]. Поскольку у матери имелась миссенс-мутация p.A114T гена *ALPL*, а у отца — миссенс-мутация p.D294A в 9 экзоне и полиморфизм в 12 экзоне (T1565C; Val505Ala), было высказано предположение, что ребенок имел компаунд-гетерозиготные мутации гена, обусловившие летальную форму патологии; при этом у родителей клинические признаки заболевания отсутствовали.

Вторая обнаруженная нами мутация p.E191K в экзоне 6 у всех представленных детей часто встречается среди пациентов европейского происхождения, являясь «умеренной» [2, 6, 7, 12]. В исследованиях *in vitro* показано, что активность фермента при данном дефекте сохраняется на 55—86% [11]. В большинстве случаев данная мутация гена *ALPL* находится в гетерозиготном состоянии, сочетаясь с какой-либо другой [6, 7, 12]. Р. Henthorn и соавт. [13] сообщали о 2 детях с детской формой патологии и о женщине 65 лет с взрослой формой, которые являлись компаунд-гетерозиготами по мутациям p.E191K и p.D294A гена *ALPL*. Однако в следующем сообщении той же группы авторов приводится информация о ребенке с составными гетерозиготными мутациями p.E191K/p.D378V, умершем в возрасте 8 мес от респираторных осложнений, что по тяжести соответствует инфантильной форме ГФ.

Можно предположить, что у второго нашего пациента раннее начало заболевания и более тяжелое течение обусловлены более выраженным снижением активности ЩФ в результате мутаций p.T85P/p.E191K, чем у мальчика с дефектом p.A114T/p.E191K.

Выявленная нами мутация p.T389I в экзоне 10 гена *ALPL* была ранее описана у ребенка с перинатальной формой ГФ, который имел компаунд-гетерозиготные мутации p.T389I/p.S368del (Versailles lab oct., 2004). Клиническая картина заболевания у нашего пациента с дефектом p.E191K/p.T389I гена *ALPL* больше соответствует инфантильной форме патологии.

Разнообразие клинических признаков и форм ГФ требует рассмотрения данного диагноза у пациентов среднего возраста с жалобами на частые и плохо срастающиеся переломы, скелетно-мышечные боли. Как правило, у пациентов с взрослой формой ГФ в анамнезе имеется указание на проявления рахита в детстве или раннее выпадение зубов (молочных или постоянных). Переломы обычно локализируются в лучевой, плечевой костях; у женщин — подвертельные переломы бедренных костей, стресс-переломы плюсневых костей, у мужчин — переломы позвоночника [14]. Отложение пирофосфата каль-

ция в связках, сухожилиях и суставах может быть причиной болевого синдрома и ограничения двигательной активности [15]. Описан семейный случай ГФ, единственным проявлением заболевания у пациентов был болевой синдром на фоне кальцификации связок и суставов [15]. Правильная диагностика может предотвратить неоправданное использование бисфосфонатов, которые применяются при остеопорозе. При ГФ данные препараты утяжеляют заболевание, так как являются аналогами пиррофосфатов, избыточно накапливающихся при снижении активности ЩФ.

В 1956 г. для лечения ГФ с ограниченным успехом применяли кортизон. Использование замкнутого переливания плазмы богатой ЩФ от пациентов с болезнью Педжета было предпринято в 80-х годах XX века. Пересадка аллогенных мезенхимальных стволовых клеток донора, изолированная трансплантация остеобластов также не давали достаточ-

ного эффекта [16]. У взрослых пациентов применение терипаратида (рекомбинантного паратгормона) было малоэффективно. В настоящее время имеются данные об использовании заместительной ферментной терапии рекомбинантной тканенеспецифической ЩФ. Эффективность такого лечения доказана на животных моделях и в клинических испытаниях на людях [17, 18]. Применение данного препарата у 12 пациентов с перинатальной и инфантильной формами ГФ значительно улучшило структуру костей, что оказало положительное влияние на функцию легких и двигательную активность детей.

В заключение необходимо подчеркнуть важность дифференциальной диагностики различных рахитоподобных заболеваний с ГФ. Решающее значение в постановке диагноза ГФ имеет правильная оценка клинических и анамнестических данных, определение уровня ЩФ с учетом возрастных норм и молекулярно-генетический анализ.

ЛИТЕРАТУРА

- Mumm S, Jones J, Finnegan P, Whyte MP. Hypophosphatasia: molecular diagnosis of Rathbun's original case. *J Bone Miner Res*. 2001;16(9):1724-1727. doi: 10.1359/jbmr.2001.16.9.1724.
- Leung EC, Mhanni AA, Reed M, et al. Outcome of perinatal hypophosphatasia in manitoba mennonites: a retrospective cohort analysis. *JIMD Rep*. 2013;11:73-78. doi: 10.1007/8904_2013_224.
- Mornet E, Yvard A, Taillandier A, et al. A molecular-based estimation of the prevalence of hypophosphatasia in the European population. *Ann Hum Genet*. 2011;75(3):439-445. doi: 10.1111/j.1469-1809.2011.00642.x.
- Волков АЕ, Рымашевский АН, Волошин ВВ, и др. Пренатальная диагностика редких врожденных пороков и синдромов. XL. Гипофосфатазия. *Пренатальная диагностика*. 2009;8(4):331-335. [Volkov AE, Rymashevskiy AN, Voloshin VV, et al. Prenatal'naya diagnostika redkikh vrozhdennykh porokov i sindromov. XL. Gipofosfataziya. *Prenatal'naya diagnostika*. 2009;8(4):331-335. (In Russ.)].
- Henthorn PS, Raducha M, Fedde KN, et al. Different missense mutations at the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene locus in autosomal recessively inherited forms of mild and severe hypophosphatasia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89(20):9924-9928.
- Taillandier A, Sallinen S-L, Brun-Heath I, et al. Childhood Hypophosphatasia Due to a de Novo Missense Mutation in the Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase Gene. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(4):2436-2439. doi: 10.1210/jc.2004-1456.
- Mornet E, Taillandier A, Peyramaure S, et al. Identification of fifteen novel mutations in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNSALP) gene in European patients with severe hypophosphatasia. *Eur J Hum Genet*. 1998;6(4):308-314. doi: 10.1038/sj.ejhg.5200190.
- Отрощенко Е.С., Вашурина Т.В., Цыгин А.Н., и др. Случай диагностики наследственной гипофосфатазии. *Педиатрическая фармакология*. 2009;6(1):88-89. [Otroshchenko YS, Vashurina TV, Tsygin AN, et al. Diagnostics of the inherited hypophosphatasia. *Pediatric pharmacology*. 2009;6(1):88-89. (In Russ.)].
- Greenberg CR, Evans JA, McKendry-Smith S, et al. Infantile hypophosphatasia: localization within chromosome region 1p36.1-34 and prenatal diagnosis using linked DNA markers. *Am J Hum Genet*. 1990;46(2):286-292.
- Mornet E. The Tissue Nonspecific Alkaline Phosphatase Gene Mutations Database 2007. Available at: <http://www.sesep.uvsq.fr/Data base.html>.
- Zurutuza L, Muller F, Gibrat JF, et al. Correlations of genotype and phenotype in hypophosphatasia. *Hum Mol Genet*. 1999;8(6):1039-1046.
- Fauvert D, Brun-Heath I, Lia-Baldini A-S, et al. Mild forms of hypophosphatasia mostly result from dominant negative effect of severe alleles or from compound heterozygosity for severe and moderate alleles. *BMC Med Genet*. 2009;10(1):51. doi: 10.1186/1471-2350-10-51.
- Henthorn PS, Whyte MP. Infantile hypophosphatasia: successful prenatal assessment by testing for tissue-non-specific alkaline phosphatase isoenzyme gene mutations. *Prenat Diagn*. 1995;15(11):1001-1006.
- Berkseth KE, Tebben PJ, Drake MT, et al. Clinical spectrum of hypophosphatasia diagnosed in adults. *Bone*. 2013;54(1):21-27. doi: 10.1016/j.bone.2013.01.024.
- Guañabens N, Mumm S, Möller I, et al. Calcific Periarthritis as the Only Clinical Manifestation of Hypophosphatasia in Middle-Aged Sisters. *J Bone Miner Res*. 2014;29(4):929-934. doi: 10.1002/jbmr.2110.
- Tadokoro M, Machida H, Ohgushi H. Genetic basis for skeletal disease. Stem cell therapy for genetic bone disorders. *Clin Calcium*. 2010;20(8):1228-1235. doi: 10.1002/jbmr.2110.
- Whyte MP, Greenberg CR, Wenkert D, et al. Hypophosphatasia in children: enzyme replacement therapy using bone-targeted tissue-nonspecific alkaline phosphatase. *ASBMR 2010 Annual Meeting*, Toronto. 2010.
- Ozono K. Enzyme replacement therapy for hypophosphatasia. *Clin Calcium*. 2014;24(2):257-263. doi: 10.1002/jbmr.2110.