

Aus dem Zentrum für Pharmakologie
der Universität zu Köln
Institut I für Pharmakologie
Direktor: Universitätsprofessor Dr. Dietmar Fischer

durchgeführt im;
Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin des Deutschen Zentrums für Luft und
Raumfahrt e.V.
Institutsdirektor: Professor Dr. med. Jens Jordan

Impaired Physical Performance in X-linked Hypophosphatemia is not associated with depleted muscular phosphate stores

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

vorgelegt von
Johannes Alexander Serhan Kara-Schmidt
aus Konak

promoviert am 19.02.2024

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln
im Jahr 2024.

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink
1. Gutachter: Privatdozent Dr. rer. nat. J. Zange
2. Gutachterin: Professorin Dr. rer. nat. A. Niehoff

Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie wurde von mir zusammen mit folgenden Personen konzipiert:

Jochen Zange, Jörn Rittweger, Lothar Seefried.

Oliver Semler, Eckhard Schönau, Mirko Rehberg und Friederike Körber unterstützten die Studie mit wertvoller klinischer Erfahrung und Beratung.

Die in dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente und Messungen sind von mir mit Unterstützung von dem Studienteam bestehend aus Jochen Zange, Jörn Rittweger, Lothar Seefried, Fabian Hoffman und Wolfram Sies in den Räumen des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin, durchgeführt worden. Die biochemischen Analysen wurden durch ein validiertes externes Labor durchgeführt. Die Daten wurden von mir selbst mit der Unterstützung von Herrn Zange ausgewertet.

Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 28.03.2024

Unterschrift:

Danksagung

Mein außerordentlicher Dank geht an alle Probanden aus Deutschland und Österreich für ihre Teilnahme an der Studie und dafür, dass sie mir die Möglichkeit gegeben haben, die entsprechenden wissenschaftlichen Daten zu erheben.

Ich danke dem deutschen Volk für die renommierte medizinische Ausbildung und die Möglichkeit, diese Forschung durchzuführen, welches ich beides sehr genossen habe.

Ich danke meiner Fakultät für die Würdigung mit dem Fakultätspreis des Research Tracks 2019.

Ich danke Jochen Zange, Jörn Rittweger und Lothar Seefried zutiefst für das Privileg, dass ich von ihnen die Kunst des wissenschaftlichen Arbeitens erlernen durfte.

Inständiger Dank gebührt Patrick Schmidt, der mich vom ersten Moment im Land der aufgehenden Sonne an über all die Jahre Tag und Nacht auf meinem Weg begleitet.

Auch wenn sie nicht mehr bei mir sind, möchte ich meine Dankbarkeit für meine liebevolle Großmutter Inci und meine Hündin Roksi zum Ausdruck bringen. Ohne meine Oma wäre ich kein liebevoller Arzt geworden, und ohne Roksi wäre ich nicht so weit auf meinem Weg gekommen.

Widmung

Ich möchte diese Arbeit all der Liebe, der selbstlosen und endlosen Unterstützung meiner
geliebten Eltern
Sevda und Erhan Kara
widmen.

Sie ermutigten mich, die Welt und die Natur mit Neugier zu betrachten und meine Träume zu
verfolgen. Sie vertrauten darauf, dass ich die weite Welt erkunde und meinen eigenen Weg
finde.

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	6
1. ZUSAMMENFASSUNG	8
2. EINLEITUNG.....	8
2.1 X-chromosomale Hypophosphatämie.....	8
2.1.1. Nomenklatur und Prävalenz.....	8
2.1.2. Ätiologie und Pathophysiologie	9
2.1.3. Symptome und Klinik	9
2.1.4. Diagnostik.....	10
2.1.5. Therapie	11
2.2 Phosphor	12
2.2.1. Universeller Baustein des Lebens.....	12
2.2.2. ³¹ Phosphor Magnetresonanz-Spektroskopie	13
2.3 Fragestellung und Ziel der Arbeit.....	13
2.4 Versuchsdesign	14
3. PUBLIKATION	15
4. DISKUSSION	28
4.1 Ergebnisdiskussion	28
4.2 Methodendiskussion	30
5. LITERATURVERZEICHNIS.....	32
6. ANHANG.....	35
6.1 Research Track Projekt Award 2019	35
6.2 Abbildungsverzeichnis.....	37
6.3 Erlaubnis für die Veröffentlichung im Rahmen der Dissertation	38

Abkürzungsverzeichnis

³¹ P-MRS	³¹ P magnetische Resonanz Spektroskopie
ADP	Adenosindiphosphat
ALP	Alkalische Phosphatase
ATP	Adenosintriophosphat
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMI	Body-Mass-Index
cFGF23	c-Terminal fibroblast growth factor - 23
CK	Creatin-Kinase
CRP	C-reaktive Protein
Ctrl group	Kontrollgruppe
DLR	Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt e.V.
DRKS	Deutsches Register Klinischer Studien
EFI	Esslinger Fitness Index
EMG	Elektromyographie
EMA	European Medicines Agency
FGF23	Fibroblastenwachstumsfaktor 23
FDA	U.S. Food and Drug Administration
FID	Free Induction Decay
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
H	Wasserstoff
LDH	Laktatdehydrogenase
MuXLiH	Muscle Fatigability and X-Linked Hypophosphatemia (Name des Projektes)
MVC	Maximum Voluntary Contraction
NTX	n-terminal Telopeptide of Type 1 Collagen
P	Phosphate
PCr	Phosphocreatine
PHEX	Phosphate-regulating endopeptidase homolog, X-linked gene
Pi	Inorganic Phosphate
PME	Phosphomonoesters
PTH	Parathyroid Hormone 1-84
S	Serum
SD	Standard Deviation

SMI _____ Skeletal Muscle Mass Index
SMM _____ Absolute Skeletal Muscle Mass
TmP/GFR _____ Ratio of Tubular Maximum Reabsorption Rate of Phosphate to GFR
TRP _____ Tubular Reabsorption of Phosphate
TRPV₅ _____ Transient receptor potential cation channel subfamily V member 5
TSH _____ Thyroid-stimulating Hormone
U _____ Urine
XLH _____ X-linked hypophosphatemia
XLH Group _____ Patientengruppe

1. Zusammenfassung

XLH ist eine seltene genetische Erkrankung, die durch pathogene Varianten im PHEX Gen des X-Chromosoms verursacht wird. Bei XLH-Erkrankten kommt es zu erhöhten Konzentrationen von FGF23 im Blut. Dies führt zu einer gesteigerter Phosphatausscheidung in den Nieren. Dadurch kommt es zu Knochendeformitäten, Kleinwuchs, Gangstörungen, Knochen-, Gelenk- und Muskelschmerzen und reduzierter Leistungsfähigkeit.

Bislang wurde behauptet, dass XLH-Patienten eine verminderte Muskelkraft aufweisen, die auf eine geringe Konzentration der energiereichen Phosphate im Muskelgewebe zurückzuführen sind. Unsere Untersuchung zeigten, dass die Phosphatkonzentrationen in den Muskeln von XLH-Erkrankten nicht signifikant abweichen.

Es wird angenommen, dass die reduzierte Muskelkraft und Muskelmasse eher auf adaptive Prozesse durch Bewegungseinschränkungen und sonstige Störungen wie Knochen- und Gelenkdeformitäten zurückzuführen sind. Physiotherapie und Muskeltraining können dazu beitragen, Muskeldefizite zu vermeiden und die Mobilität von XLH-Erkrankten zu erhalten. Außerdem kann es eine effektive Maßnahme gegen das bei dem Patientenkollektiv häufig auftretende Übergewicht und das metabolische Syndrom sein¹.

Insgesamt zeigt diese Studie deutlich, dass die muskulären Defizite bei XLH-Patienten nicht auf einen direkten Phosphatmangel in der Muskulatur zurückzuführen sind.

2. Einleitung

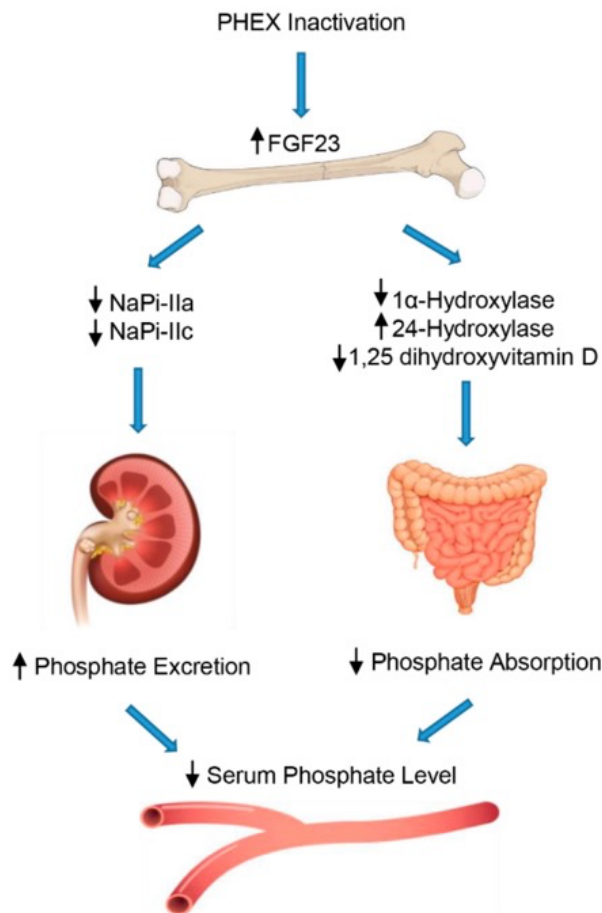
2.1 X-chromosomale Hypophosphatämie

2.1.1. Nomenklatur und Prävalenz

X-chromosomale Hypophosphatämie, auf englisch *X-linked hypophosphatemia (XLH)* ist eine seltene renale Phosphatverlusterkrankung (XLH, ORPHA: #[89936](#)²). Die Erkrankung ist im deutschsprachigen Raum -unter dem veralteten Begriff- *Phosphatdiabetes* bekannt und zeichnet sich durch Hypophosphatämie und Vitamin-D-resistente Rachitis aus³. Rachitis bezeichnet Erkrankungen des Knochenstoffwechsels im Sinne einer Störung der (De-)Mineralisierung. Die weltweite Prävalenz von XLH liegt bei 1:20,000^{4,5}.

2.1.2. Ätiologie und Pathophysiologie

Die Erkrankung wird durch verschiedene vererbte und sporadische inaktivierende Mutationen im PHEX-Gen (PHEX, OMIM: #300550⁶) verursacht. Das Gen befindet sich auf dem X-Chromosom (Xp22.11) und zeigt ein dominantes Vererbungsmuster mit vollständiger Penetranz⁷.



PHEX wird bereits in der Osteogenese in Knochen und Zähnen exprimiert und ist für die Kodierung einer Endopeptidase verantwortlich⁸. Eine Mutation im PHEX-Gen führt zu einem erhöhten Spiegel des Fibroblastenwachstumsfaktors 23 (FGF23)⁹. FGF23 ist ein Phosphatonin und supprimiert das Gen, das den Natriumphosphat-Co-Transporter (NaPi IIa/c) kodiert. Dadurch kommt es im proximalen renalen Tubulus aufgrund des Mangels an apikalen Kotransportern zu einer verminderten Phosphatrückresorption. Darüber hinaus führen erhöhte zirkulierende FGF23-Spiegel zu einem beschleunigten Abbau und einer verlangsamten Synthese von 1,25-Dihydroxy-Vitamin-D¹⁰. Durch den Mangel an Phosphat und aktivem Vitamin D entsteht eine Knochenmineralisierungsstörung.

Abb. 1 übernommen aus Romagnoli et al.¹¹

2.1.3. Symptome und Klinik

Die Erkrankung manifestiert sich in der Regel ab dem ersten Lebensjahr. Die betroffenen Kinder zeigen ein verzögertes und disproportionaleres Wachstum¹². Durch das Körpergewicht verformen sich die tragenden Extremitäten im Sinne einer Genu varum und Genu valgum Störung. Eine schwere Vitamin-D-resistente Rachitis, Skelettdeformitäten und Kleinwuchs sind die Leitsymptome dieser Erkrankung.

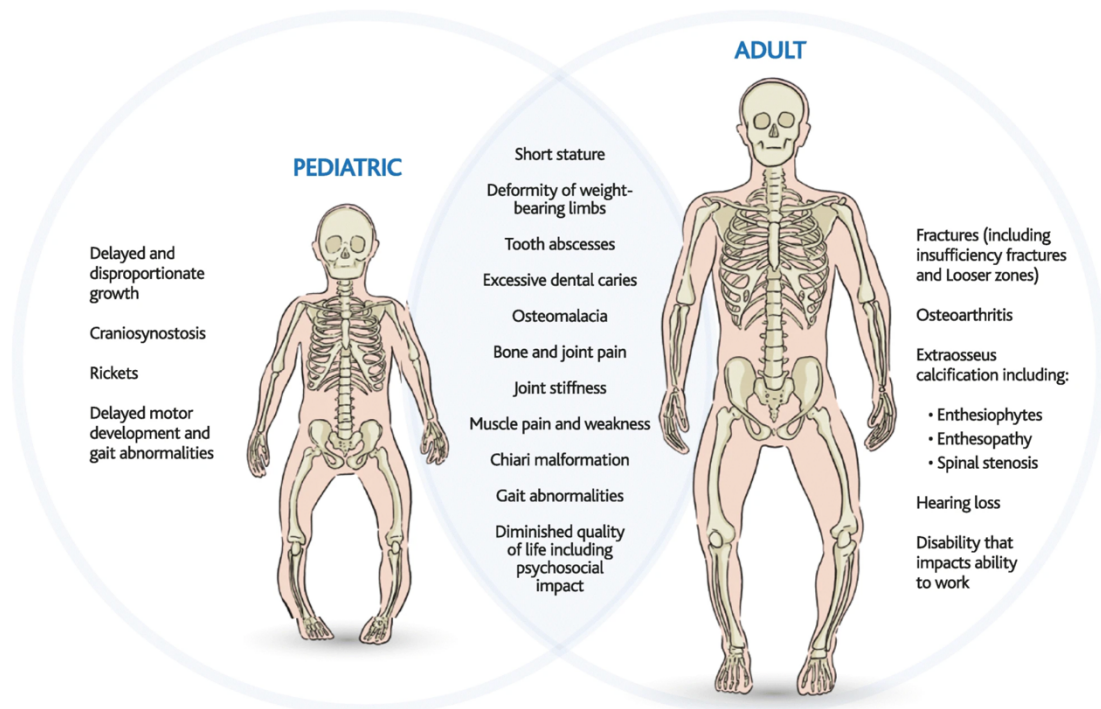


Abb. 2 „Symptomatology and pathophysiology of XLH. The signs, symptoms, sequelae, and long-term consequences of XLH in paediatric (left) and adult (right) patients “

übernommen aus Beck-Nielsen et al. ¹³

Eine frühzeitige endochondrale Ossifikation von Schädelnähten verursacht eine Craniosynostosis¹⁴. Bei Erwachsenen treten Frakturen, Pseudofrakturen, Osteoarthritis¹⁵ sowie dentale Abszesse und Karies¹⁶ auf. Zusätzlich beeinträchtigen extraossäre Kalzifikationen wie Enthesiophyte, Enthesopathie und Spinalstenose sowie Hör- und Gleichgewichtstörungen die Lebensqualität¹⁷ erheblich. Alle Betroffenen berichten über Knochen- und Gelenkschmerzen, sowie Gelenksteifigkeit¹⁸. Es liegt eine deutliche Schwäche der Muskulatur ohne Volumenminderung der Muskulatur vor¹⁹. Zusätzlich werden Muskelschwäche und Muskelschmerzen berichtet¹¹.

2.1.4. Diagnostik

Die Diagnose von XLH bedarf einer interdisziplinären Herangehensweise und der Anwendung einer Vielzahl von diagnostischen Verfahren. Eine erfolgreiche und rechtzeitige Diagnosestellung ist essenziell und erfordert eine effektive Zusammenarbeit und gute Kommunikation zwischen verschiedenen Fachbereichen, inklusive der Kinder- und Jugendheilkunde, Orthopädie, Radiologie, Endokrinologie, Nephrologie und Humangenetik.

Eine umfassende Erfassung der Anamnese kann bereits die ersten Hinweise auf das Vorliegen von XLH in der Familie liefern, da es sich um eine genetisch bedingte Erkrankung handelt und de-novo-Mutationen nur für circa 23% der PHEX-Mutation verantwortlich sind²⁰. Zusätzlich sollten bei der Anamnese auch mögliche therapierefraktäre Rachitis-Zeichen berücksichtigt werden. Dies bezieht sich auf Symptome von Rachitis, die trotz einer adäquaten Vitamin-D-Substitution keine signifikante Verbesserung aufweisen²¹.

Mittels einer gründlichen körperlichen Untersuchung können die pathognomonischen Symptome und die klinische Manifestation von XLH identifiziert werden.

Die laborchemische Blutdiagnostik zeigt ein verringertes Serumphosphat, erhöhte Serum-FGF23-Spiegel, ein normales Serumkalzium, eine moderat erhöhte alkalische Phosphatase und einen PTH-Spiegel im oberen Normbereich²².

Bildgebende Verfahren umfassen Röntgenaufnahmen, Magnetresonanztomographie, Dual-Energy-Röntgenabsorptiometrie, Computertomographie und Ultraschall. Röntgenaufnahmen zeigen die klassische osteomalaziebedingten Skelettveränderungen, während die MRT detaillierte Informationen über die Muskulatur, Sehnen und Gelenke liefert. Die radiologischen Verfahren nehmen eine bedeutende Rolle bei der Diagnoseerstellung ein und ergänzen die klinischen Befunde. Die wichtigsten radiologischen Zeichen sind konkavisierte Metaphysen mit unscharfen Rändern und verbreitete metaphysäre Enden, Pseudofrakturen, Frakturen und die Verformung der unteren Gliedmassen²².

Eine genetische Analyse kann die Mutationen im PHEX-Gen nachweisen⁷. Dies ermöglicht eine eindeutige Diagnosestellung und kann die Differentialdiagnosen zweifelsfrei ausschließen. Zu den Differenzialdiagnosen zählen *autosomal dominante Hypophosphatämie*, *Tumor-induzierte Osteomalazie*, das *McCune-Albright Syndrom* und *Fanconi Syndrom*²³.

2.1.5. Therapie

Die konventionelle Therapie umfasst die orale Verabreichung von Phosphatsalzen und Calcitriol. Das primäre Ziel der Substitutionstherapie besteht darin, die Knochendeformitäten bei betroffenen Kindern zu minimieren und ihr Wachstum zu fördern²⁴. Ein standardisiertes Behandlungsschema für Kinder beinhaltet die Verabreichung von 20-40 ng/kg/Tag Calcitriol (1,25-Dihydroxyvitamin D), aufgeteilt in zwei tägliche Dosen, sowie von 40 mg Phosphor/kg/Tag, aufgeteilt in fünf tägliche Dosen. Eine sorgfältige Überwachung und regelmäßige Kontrollen sind von entscheidender Bedeutung. Eine erhöhte Phosphatzufuhr steigert die FGF23-Synthese. Außerdem kann es einen sekundären Hyperparathyreoidismus verursachen. Die Substitutionstherapie bei erwachsenen Erkrankten erfolgt in der Regel nur in symptomatischen Fällen oder perioperativ.²³

Burosumab bietet eine neue kausale Therapieoption zur Behandlung von XLH an. Es handelt sich um einen monoklonalen Antikörper, der gegen das Hormon FGF23 gerichtet ist.

Burosumab bindet an FGF23 und hemmt damit seine Wirkung. Dadurch wird die übermäßige Phosphatausscheidung reduziert und der Phosphatgehalt im Blut erhöht. Im Jahr 2018 wurde der Wirkstoff Burosumab durch die US-amerikanische Food and Drug Administration und die Europäische Arzneimittelagentur zur Behandlung von XLH bei Kindern ab einem Jahr zugelassen²⁵. In einer Studie von *Imel et al.* mit Burosumab zeigte sich eine signifikante Verbesserung der klinischen Manifestation der Erkrankung, sowie eine Verbesserung des Wachstums- und der Laborwerte²⁶. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass das Medikament alle zwei Wochen subkutan verabreicht wird. Doppelblinde Phase-3-Studien konnten die Wirksamkeit von Burosumab auch bei erwachsenen Patienten zeigen^{27,28}. Jedoch liegt derzeit keine Zulassung dieses Medikaments zur Behandlung von XLH bei Erwachsenen vor. Eine orthopädische Betreuung ist wichtig, da gegebenenfalls chirurgische Eingriffe erforderlich sein können.

XLH ist eine chronische Erkrankung, die mit einer fortschreitenden Beeinträchtigung der Lebensqualität einhergeht^{17,29}. Eine multidisziplinäre Betreuung kann die Lebensqualität der Betroffenen signifikant verbessern^{30,31}. Physiotherapeuten, Psychotherapeuten, Sozialarbeiter, HNO- und Zahnärzte sollen auch in das Behandlungsteam einbezogen werden um die Betroffenen bestmöglich und umfassend betreuen zu können³².

2.2 Phosphor

2.2.1. Universeller Baustein des Lebens

Der Name Phosphor entstammt dem Altgriechischen Wort *φωσφόρος* (*Phōsphóros*), welches sich aus den Bestandteilen *Phōs*, das auf den Sanskrit-Wortstamm *Bha* zurückgeht und „Licht“ bedeutet, sowie *Phoros*, das vermutlich auf das Sanskrit-Wort *bher* für "tragen" zurückzuführen ist, zusammensetzt³³.

Phosphor ist nach unserer heutigen Kenntnis für alle uns bekannten Formen des Lebens essenziell³⁴. Der Phosphorbestand des menschlichen Körpers beläuft sich auf etwa 700 g und ist damit das zweithäufigste Mineral in unserem Körper³⁵. Etwa 85% davon befinden sich im Knochen und 1% in der Extrazellulärflüssigkeit. Das restliche Phosphat interagiert innerhalb unserer Zellen als integraler Bestandteil von Nukleinsäuren und Koenzymen, dient als Energieüberträger, ist in Form von Phospholipiden Bestandteil der Zellmembran und ist beteiligt an multiplen Signalwegen^{36,37}.

Unter Berücksichtigung, dass eine individuelle Muskelzelle annähernd eine Milliarde Adenosintriphosphat (ATP)-Moleküle besitzt, welche jeweils mehrere Tausend Male pro Tag einer Hydrolyse und anschließender Phosphorylierung unterzogen werden, und ein Mensch im Ruhezustand zirka 40 kg ATP täglich verbraucht, wird die kritische Rolle von Phosphat für Lebewesen deutlicher³⁶.

Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt eine Tagesdosis von 700 mg Phosphor für Erwachsene³⁸. Die Aufnahme über die durchschnittliche tägliche Nahrung in den Industrienationen liegt in der Regel über diesem Wert, da Phosphat in Fleisch, Milchprodukten und Brot reichlich vorhanden ist. Circa 60-80% der Phosphatsalze werden aus dem Darmlumen passiv transportiert. Durch einen $1,25[\text{OH}]_2\text{D}_3$ abhängigen aktiven Transportweg kann die Aufnahme nur bedingt reguliert werden. Der Plasmaphosphat Spiegel beträgt bei Gesunden 0,89-1,44 (mmol/L). Phosphor wird im Glomerulus frei filtriert und 80% davon werden durch einen Natrium-Phosphat-Cotransporter (NaPi IIa/c) rückresorbiert³⁹. Die Menge des Phosphats im 24-Stunden-Sammelurin bei gesunden Erwachsenen beträgt nahrungsabhängig 0,4 bis 1,3 Gramm⁴⁰. Diese geringe Menge Phosphat in Urin ermöglichte im Jahr 1669 die Entdeckung von Phosphor, als der deutsche Apotheker und Alchemisten Hennig Brand auf der Suche nach dem legendären „Stein der Weisen“ menschlichen Urin bis zur Trocknung verdampfte⁴¹.

2.2.2. ³¹P-Phosphor Magnetresonanz-Spektroskopie

Die ³¹P-Magnetresonanz-Spektroskopie ist eine valide Methode zur Bestimmung von Phosphatmetaboliten und anorganischem Phosphat in relativen Konzentrationen⁴². Sie ermöglicht nicht invasive *in situ* Messungen und ohne Kontrastmittel. Die Methodik findet aktuell vermehrt im wissenschaftlichen Kontext Anwendung⁴³.

Unter Verwendung einer zylindrischen ³¹P/¹H-Resonator-Spule und eines 3-Tesla-Siemens-Biograph-mMR-Systems wurde der Muskelbauch des *M. soleus* in Bezug auf allen 3 Raumachsen im Zentrum des Magneten gelagert.

2.3 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Obwohl funktionelle Einschränkungen und die beeinträchtigte körperlicher Leistungsfähigkeit bei Erwachsenen mit X-chromosomaler Hypophosphatämie gut erforscht sind, sind die zugrunde liegenden pathophysiologischen Mechanismen noch nicht vollständig geklärt. Um tatsächliche Muskeldefizite bei XLH-Erkrankten besser zu verstehen ist es essenziell zu klären, ob diese mit einer unzureichenden intramyozellulären Verfügbarkeit von anorganischem Phosphat oder phosphorhaltigen Verbindungen verbunden sind. Bislang bestand in der klinischen und wissenschaftlichen Fachwelt weiterhin eine Diskussion darüber, ob die Muskelschwäche entweder als direkte Folge eines Phosphatmangels der Muskulatur ein Symptom ist oder als konsequente Begleiterscheinung der anderen Symptome anzusehen ist.

Das Hauptziel dieser klinischen Studie ist es, mithilfe nicht invasiver und Methoden festzustellen, ob bei XLH-Patienten ein Phosphatmangel in der Muskulatur vorliegt. Dabei soll auch der Muskelphänotyp der betroffenen Personen im Vergleich mit gesunden Probanden untersucht werden.

2.4 Versuchsdesign

Diese Fall-Kontroll-Studie wurde in der Forschungseinrichtung *:envihab* am Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt (DLR e.V.) in Köln durchgeführt. 13 XLH-Erkrankte und 13 alters-, geschlechts- gewichtsvergleichbare Kontrollteilnehmer nahmen an der Studie teil. Die XLH-Gruppe wurde durch das orthopädische Krankenhaus König Ludwig Haus in Würzburg rekrutiert. Alle Teilnehmer wurden ausführlich aufgeklärt und gaben schriftlich ihr Einverständnis. Alle Studienteilnehmer wurden zwischen Mai und Dezember 2019 zu einem eintägigen Testprotokoll auf das DLR-Gelände eingeladen. Die Studie wurde von den Ethikkommissionen der medizinischen Fakultäten an den Universitäten Köln (Nr. 19-1020) und Würzburg (Nr. 128/19) genehmigt. Diese Forschung wurde gemäß den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die Studie wurde im Vorfeld im Deutschen Register für Klinische Studien ([DRKS 00016074](#)) registriert.

Die Einschlusskriterien umfassten erwachsene Patienten im Alter von 18-65 Jahren, die mit XLH diagnostiziert wurden (XLH-Gruppe) oder gesunde Probanden ohne muskuloskeletale Störungen (Kontrollgruppe). Zu den Ausschlusskriterien gehörten akute Verletzungen oder chronische Erkrankungen, die die Durchführung des Zweibein-Sprungtests oder des isokinetischen Muskeltests verhinderten, Kontraindikationen für die MRT wie Klaustrophobie, ferromagnetische Implantate, Herzschrittmacher oder Schwangerschaft sowie die Teilnahme an regelmäßigen sportlichen Aktivitäten in der Kontrollgruppe (um Athleten als Vergleichspersonen auszuschließen). Informationen zur genetischen Grundlage der PHEX-Varianten der XLH-Teilnehmer und zur Substitutionstherapie befindet sich im ergänzenden Material⁴⁴. Weitere Informationen zu ihren Knochenverformungen und chirurgischen Vorgeschichten wurden bereits in einem Artikel zur Knochengeometrie veröffentlicht⁴⁵.

In einem eintägigen Testprotokoll wurden die demographischen Daten, die Phosphatmetaboliten im *Musculus soleus* im Ruhezustand mittels 31P-Magnetresonanzspektroskopie, die Muskelvolumina von *musculus gluteus maximus*, *m. gluteus medius*, *m. gluteus minimus*, *m. iliopsoas*, *m. tensor fasciae latae*, *m. rectus femoris*, *mm. vasti femoris* (*m. vastus medialis*, *m. vastus intermedius* et *m. vastus lateralis*), *m. soleus*, and *m. gastrocnemius medialis et lateralis* mittels MRT, Labor- und Urintests, die maximale Muskelkraft und die Muskelermüdung der Kniestrecker auf einem isokinetischen Testgerät sowie die Zwei-Bein-Sprung-Leistung mittels Mechanographen erfasst.

3. Publikation

Titel: Impaired Physical Performance in X-linked Hypophosphatemia is not caused by depleted muscular phosphate stores⁴⁶

Autoren: Johannes Alexander Serhan Kara, Jochen Zange, Fabian Hoffman, Jens Tank, Jens Jordan, Oliver Semler, Eckhard Schönau, Jörn Rittweger, Lothar Seefried

Zeitschrift: The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism published - Oxford University Press.

PMID: 37043477

DOI: 10.1210/clinem/dgad210

Impaired Physical Performance in X-linked Hypophosphatemia Is not Caused by Depleted Muscular Phosphate Stores

Johannes Alexander Serhan Kara,¹ Jochen Zange,¹ Fabian Hoffman,¹ Jens Tank,¹ Jens Jordan,¹ Oliver Semler,² Eckhard Schönau,² Jörn Rittweger,^{1,2} and Lothar Seefried³ 

¹German Aerospace Center, Institute of Aerospace Medicine, 51147 Cologne, Germany

²Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, University of Cologne, University Hospital Cologne, 50937 Cologne, Germany

³Osteology and Clinical Trial Unit, Orthopedic Department, Julius Maximilian University Würzburg, 97074 Würzburg, Germany

Correspondence: Lothar Seefried, MD, Musculoskeletal Center Würzburg, Brettreichstr. 11, 97074 Würzburg, Germany. Email: l-seefried.klh@uni-wuerzburg.de.

Abstract

Context: X-linked hypophosphatemia (XLH) is a rare genetic disease, characterized by renal phosphate wasting and complex musculoskeletal manifestations including decreased physical performance.

Objective: To characterize muscular deficits in patients with XLH and investigate phosphate stores in muscles.

Methods: Case–control study (Muscle fatigability in X-linked Hypophosphatemia [MuXLIH]) with a 1-time assessment at the German Aerospace Center (DLR), Cologne, from May to December 2019, including patients with XLH cared for at the Osteology Department, University of Würzburg. Thirteen patients with XLH and 13 age/sex/body weight–matched controls aged 18–65 years were included. The main outcome measure was ³¹P-magnetic resonance spectroscopy (³¹P-MRS)–based assessment of phosphate metabolites in the soleus muscle at rest. Further analyses included magnetic resonance imaging–based muscle volume measurement, laboratory testing, isokinetic maximum voluntary contraction (MVC), fatigue testing, and jumping mechanography.

Results: By means of ³¹P-MRS, no significant differences were observed between XLH and controls regarding phosphate metabolites except for a slightly increased phosphocreatine to inorganic phosphate (PCr/Pi) ratio (XLH: 13.44 ± 3.22, control: 11.01 ± 2.62, *P* = .023). Quadriceps muscle volume was reduced in XLH (XLH: 812.1 ± 309.0 mL, control: 1391.1 ± 306.2 mL, *P* < .001). No significant differences were observed regarding isokinetic maximum torque (MVC) adjusted to quadriceps muscle volume. Jumping peak power and jump height were significantly reduced in XLH vs controls (both *P* < .001).

Conclusion: The content of phosphoric compounds within the musculature of patients with XLH was not observed to be different from controls. Volume-adjusted muscle strength and fatigability were not different either. Reduced physical performance in patients with XLH may result from long-term adaptation to reduced physical activity due to skeletal impairment.

Key Words: XLH, X-linked hypophosphatemia, ³¹P-MR spectroscopy, phosphate, muscle

Abbreviations: ANOVA, analysis of variance; ATP, adenosine triphosphate; BMI, body mass index; cFGF23, c-terminal fibroblast growth factor; CK, creatine kinase; GFR, glomerular filtration rate; LDH, lactate dehydrogenase; MRI, magnetic resonance imaging; MRS, magnetic resonance spectroscopy; MVC, maximum voluntary contraction; NTX, n-terminal telopeptide of type 1 collagen; PCr, phosphocreatine; PCr/Pi, phosphocreatine to inorganic phosphate; Pi, inorganic phosphate; PTH, parathyroid hormone 1–84; TmP, tubular maximum reabsorption rate of phosphate; TRP, tubular reabsorption of phosphate; XLH, X-linked hypophosphatemia.

X-linked hypophosphatemia (XLH, OMIM: #307800) is a rare genetic disorder caused by dominantly inherited or spontaneous pathogenic variants within the phosphate-regulating endopeptidase homolog, X-linked gene (*PHEX*) on the short arm of the X chromosome (Xp22.1) leading to elevated circulating concentrations of phosphatonin fibroblast growth factor 23 (*FGF23*) (1). XLH is the most common form of heritable rickets (2) and has an incidence of approximately 1:20 000 (3). Under physiological conditions, bone-forming cells, specifically osteocytes, are considered to be the main source of *FGF23* (4). Elevated levels of *FGF23* cause renal phosphate wasting by limiting NaPi IIa/c expression in the proximal renal tubules, thereby compromising phosphate

reabsorption from urine (2). In addition, *FGF23* interferes with vitamin D metabolism by downregulating 1- α -hydroxylase (*CYP27B1*) activity and stimulating expression of 24-hydroxylase (*CYP24A1*), thus reducing activation of vitamin D to calcitriol while enhancing its degradation (2). Growing evidence supports potential further effects of elevated *FGF23* (3) and *PHEX* deficiency itself (5) on the phenotypic manifestation of XLH. All of this contributes to the clinical presentation of XLH, which is characterized by bone deformities due to rickets, delayed growth and motor development in children, short stature, gait abnormalities, oral abscesses, pain, and compromised physical performance. Particularly in adult patients with XLH, the clinical burden

Received: 6 February 2023. Editorial Decision: 4 April 2023. Corrected and Typeset: 3 May 2023

© The Author(s) 2023. Published by Oxford University Press on behalf of the Endocrine Society. All rights reserved. For permissions, please e-mail: journals.permissions@oup.com

associated with the disease appears to be largely determined by mobility restrictions, musculoskeletal pain, and muscle weakness (6, 7), which could at least partly be interpreted as a result of the skeletal phenotype.

However, phosphoric compounds are also known to have a direct relevance for skeletal muscle function. This applies foremost to the energy-rich phosphates: adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate, and phosphocreatine (PCr). While ATP is degraded to adenosine diphosphate as a necessary energetic step during the actin–myosin cross-bridge cycle, ATP pools are readily replenished by transphosphorylation of phosphate derived from PCr by creatine kinase (CK), thereby ascertaining near-constant ATP levels even during muscle fatigue (8, 9). In addition, phosphate plays important roles with regards to phosphorylation of glucose to glucose-6-phosphate, and in phosphorylation cascades of intracellular signaling enzymes (10). In line with this, Veilleux et al (11) have demonstrated that juvenile patients with XLH have increased bone mass and size while still presenting muscle function deficits. Accordingly, muscle weakness is considered an inherent clinical feature of XLH due to both suboptimal ergonomics resulting from skeletal deformities and compromised muscle function associated with deficient phosphate metabolism (3, 11, 12). However, it is still unknown whether the latter is truly a consequence of deficient or altered intramyocellular inorganic phosphate (Pi) and whether such an intracellular Pi deficiency affects the energy metabolism of muscles. Since the musculature of patients with XLH shows no signs of rigor, it can be assumed to contain normal levels of ATP at resting state.

The reaction of CK is typically far on the side of PCr with only low levels of Pi during a rest. So, a general Pi deficiency of a myocyte at rest might also entail reduced levels of PCr.

It has been shown in mice that hypophosphatemia leads to decreased ATP synthetic flux and may thus be associated with deficient restoration of phosphatic compounds in the dynamic state (13). This is supported by an observation of phosphofructokinase-deficient patients (14). In these patients, Pi released from PCr during muscle contraction was bound to sugar residues and could not be released due to the enzyme deficiency. During recovery from exercise, the lack of accessible Pi results in a slower and eventually incomplete recovery of PCr. Considering the above and given that serum levels of Pi are typically reduced in patients with XLH, deficient levels of intracellular Pi may also occur, affecting muscular energy metabolism. However, XLH and its effects on the skeleton may also affect the musculature indirectly by reduced physical activity causing potential adaptations in terms of atrophy and fiber type composition (15, 16).

Therefore, the primary aim of the present study was to assess intramuscular phosphate metabolites in patients with XLH at resting state. It was hypothesized that an altered phosphate ratio of the muscle would lead to greater fatigability in patients with XLH. Furthermore, we endeavored to assess neuromuscular power, isokinetic muscle strength, and muscle volume of our patients.

Materials and Methods

Subjects

Thirteen patients with X-linked hypophosphatemia (XLH group) and 13 age, sex, and weight-matched control participants (control group) were included in this study, with 7

women and 6 men in each group. The patients were recruited from the Orthopedic Hospital, König-Ludwig-Haus in Würzburg and informed consent was obtained from the participants. Inclusion criteria comprised adult patients aged 18–65 years either diagnosed with XLH (XLH group) or healthy subjects without any major illness and specifically without a musculoskeletal disorder (control group). Exclusion criteria comprised any acute injury or chronic disease that precluded performance of the 2-legged vertical jump test or the isokinetic muscle test, any contraindication for magnetic resonance imaging (MRI) such as claustrophobia, ferromagnetic implants, pacemakers, or pregnancy, and participation in regular or organized exercise or sport activities for the control group to preclude having athletes as comparators. The genetic background on PHEX variants of subjects with XLH and phosphate supplementation can be found elsewhere (17). Further information on their bone deformities and surgical history has been previously published in an article on bone geometry (18). The study was designed and conducted before treatment with the monoclonal anti-FGF23 antibody burosumab was approved and licensed for adult patients with XLH in Europe. None of the participants received such treatment before or at the time of assessment.

Study Design

This is a case-control study conducted at the :envihab research facilities at the Institute of Aerospace Medicine, German Aerospace Center (DLR) in Cologne, Germany. All study participants were invited to the DLR premises for a 1-day testing protocol between May and December 2019, and matched XLH and control participants were tested on the same day.

Determination of Body Composition

As an extension of the standard anthropometric data including age (years), height (cm), body mass (kg) and body mass index (BMI) (kg/m^2), body composition regarding body fat content, and skeletal muscle mass were determined by bioelectrical impedance analysis using the InBody S10 device (InBody Co., LTD, Seoul, Korea) with LookinBody 120.3.0.0.11-S/N: G424O1116 software. Results of 1 subject with XLH had to be excluded from the bioelectrical impedance analysis because of a technical error.

Biochemical Analyses of Blood and Urine Samples

Biochemical analysis of bone and mineral metabolism markers relevant for the pathophysiology of XLH was performed from blood and urine samples that were collected prior to the physical and technical assessments. Laboratory workup was performed by a certified clinical routine laboratory including the following parameters: c-terminal fibroblast growth factor (cFGF23), parathyroid hormone 1–84 (PTH), alkaline phosphatase (ALP), 25-OH vitamin D (native vitamin D), 1,25-OH vitamin D (active Vit D), n-terminal telopeptide of type 1 collagen (NTX), calcium (Ca^{2+}), phosphate, thyroid-stimulating hormone, CK, lactate dehydrogenase (LDH), C-reactive protein, total serum protein, glucose, and serum creatinine. Urine samples were assessed for creatinine, calcium, and phosphate levels to enable computation of the glomerular filtration rate (GFR), tubular reabsorption of

phosphate (TRP), and ratio of tubular maximum reabsorption rate of phosphate to glomerular filtration rate (TmP/GFR).

Considering logistical requirements such as the journey to Cologne and in order to avoid underperformance or bias due to medication deficits or hypoglycemia, participants were allowed to have breakfast and take their regular medication and supplements until 1 hour before the assessments.

Determination of Phosphate Metabolites by ^{31}P -Magnetic Resonance Spectroscopy

^{31}P -magnetic resonance spectroscopy (^{31}P -MRS) was performed using a 3 Tesla Siemens Biograph mMR system (Fig. 1), a cylindrical $^{31}\text{P}/^1\text{H}$ resonator coil with 18 cm inner diameter and 20 cm sensitive length (Rapid Biomedical

GmbH, Rimpar, Germany), and the chemical shift imaging sequence provided by the manufacturer.

All MR based examinations were performed before the exercise-based assessments. The lower right leg was placed in the resonator on a 3D-printed plastic support that stabilizes the plantar flexor muscles in the center of the resonator. The right foot was kept in a neutral position on a pedal. The acquisition parameters were pulse angle 90° , repetition time $\text{TR} = 1050$ ms, echo time $\text{TE} = 2.3$ ms, 64 averages, vector size 2048. An axial matrix of 8×8 voxels was located over the right calf muscle. The voxel size was $25 \text{ mm} \times 25 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$. The voxel matrix was located with the help of ^1H localizer scans to place at least 1 voxel into the soleus muscle avoiding neighboring muscles. Using the software package jMRUI v5.2 (www.jmrui.eu), the ^{31}P signal of 2 voxels, which

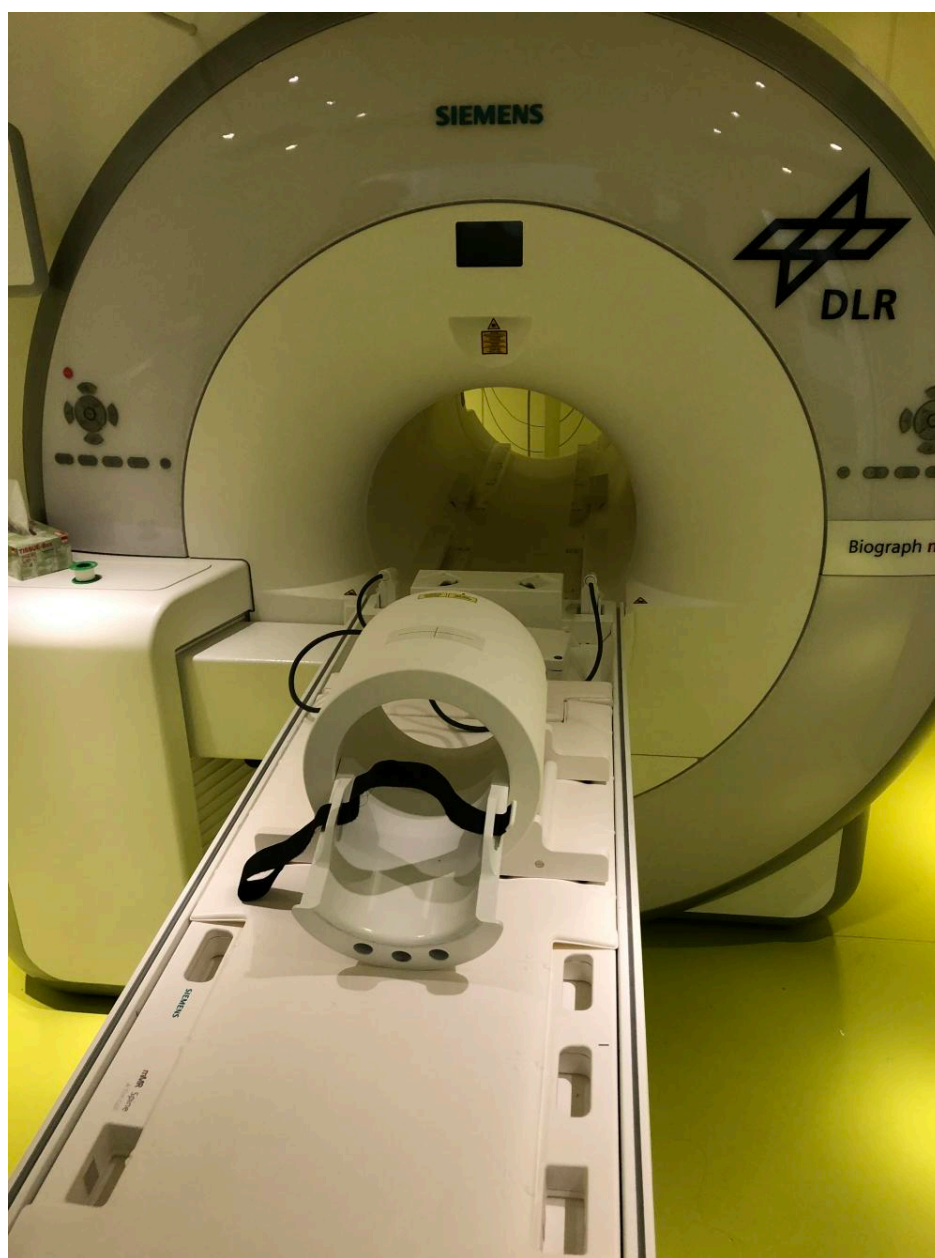


Figure 1. Double tuned $^{31}\text{P}/^1\text{H}$ resonator with an inlay elevating and stabilizing the calf muscle to the center of the magnet.

fit into the soleus muscle, were added in the time domain as free induction decay improving the signal to noise ratio. The free induction decay was filtered for noise and was converted into a spectrum by fast Fourier transformation.

The peak areas of Pi, phosphocreatine (PCr), and the beta-signal of ATP (Fig. 2) as well as the intracellular pH derived from the chemical shift of Pi relative to PCr were analyzed in arbitrary units (a.u.) using the AMARES based algorithm included in jMRUI v5.2. As no information is available on the absolute ATP concentration in muscles of patients with XLH, we did not quantify metabolites to deliver phosphorus values. Instead, we determined the endpoints as ratios of peak areas such as PCr/ATP, PCr/Pi, and Pi/ATP. Furthermore, the intracellular pH was calculated from the difference of chemical shifts of Pi and PCr.

Determination of Muscle Volume by MRI

MRI was performed on the same system as ^{31}P -MRS. Five stacks of 64 axial images of the right leg were acquired from the foot to the lower part of the lumbar spine. One subject with XLH had major surgery of her upper leg musculature. In her case, we performed the MRI and isokinetic tests on the left leg. Images were recorded using a turbo 2-echo DIXON sequence with following parameters: flip angle 10° , TR 7.02 ms, TE1 2.46 ms, TE2 3.69 ms, 300 mm \times 300 mm field of view at 1.2 mm \times 1.2 mm \times 4 mm voxel size. For the quantification of muscle volume, we used the image representing the signal intensity of water ^1H spins, which represents the muscle tissue as bright voxels surrounded by dark voxels for bone, fat, and fascia. The volumes of following muscles were evaluated using a semi-automatic software for the differential segmentation of muscle areas in the axial images (ROI-segmenter, iPattern, Institute for Pattern Recognition, University of Niederrhein, Krefeld, Germany), dissecting the following muscle compartments: musculus gluteus maximus, m. gluteus medius, m. gluteus minimus, m. iliopsoas,

m. tensor fasciae latae, m. rectus femoris, mm. vasti femoris (ie, the muscle group comprising m. vastus medialis, m. vastus intermedius, and m. vastus lateralis), m. soleus, and m. gastrocnemius medialis et lateralis.

Muscle Strength and Fatigue Tests

These tests were preceded by a general warm-up exercise of 5 minutes at 75 W on a bicycle ergometer. The torque of isokinetic maximum voluntary contraction (MVC) of the right knee extensor musculature was determined at an angular velocity of $60^\circ/\text{second}$ on an IsoMed 2000 device (D.&R. Ferstl GmbH, Hernau, Germany). In 1 case the left leg was examined owing to previous surgery on the right side. Subjects were seated with the upper body elevated by 80° and well fixated with a hip belt and with fixation pads placed on their shoulders. After a warm-up of 5 repetitions at submaximum torque and a break of 1 minute, MVC of knee extension was determined as the highest torque value reached within 3 repetitions.

After 3 minutes of recovery following isokinetic testing, participants performed a fatigue protocol consisting of 20 continuous cycles of knee extensions and flexions at $180^\circ/\text{second}$ over the full range of motion (20° - 95° knee flexion). Subjects were asked to do all contractions with maximum power predominantly trying to increase the speed of the knee extension. Fatigue of the knee extension was determined as the decrement between the maximum torque value and mean torque over the last 3 contractions (in %). Torque maximum was typically reached within the first 4 contractions.

Jumping Mechanography

All participants performed 3 countermovement jumps on a Leonardo Mechanograph Type 8N600304A (Novotec Medical GmbH Pforzheim, Germany) using the integrated software (Research Edition 4.4b01.35). Subjects were asked to stand still on the platform, and after the software-based registration of

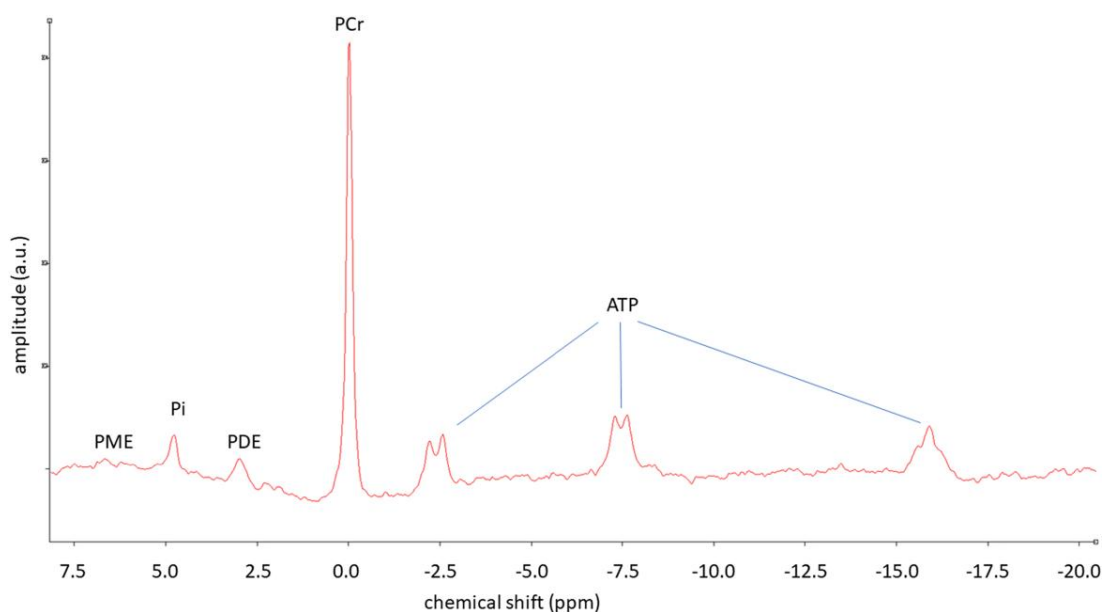


Figure 2. Example of a ^{31}P MR spectrum received from a soleus muscle at rest after adding the free induction decay from 2 voxels located in this muscle. PME, phosphomonoesters (eg; glucose-6-phosphate); Pi, inorganic phosphate; PCr; phosphocreatine; ATP, adenosine triphosphate with 3 phosphates in gamma, alpha, and beta position.

body weight and a quiet stance for 1 second, an acoustic signal was provided for the participant to start the countermovement jump. During the jumping test, the subjects kept their arms passively by the side. This arm position allowed easier balancing of the body than placement of the hands to the hips. Subjects were then asked to jump as high as possible. For safety reasons, 1 operator was standing by at each side.

The Leonardo software computed velocity, power, and elevation of the body's center of mass from the time course of the ground reaction force (19). As end points, we determined the peak power (W), peak power normalized to body mass (W/kg), peak force (kN), peak force normalized to body mass and expressed in multiples of the Earth's acceleration (g), jump height (mm), and the Esslinger fitness index (%) representing an experience based, age-adjusted, body mass-specific relative peak power (20).

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using the SPSS statistic software version 27.0 (SPSS Inc, Chicago, IL) and Prism 8/9 (GraphPad Software, San Diego, CA), which we also used to create graphs. Differences between groups were tested by unpaired t tests after testing for normal distributions with the Kolmogorov–Smirnov test. When significant deviations from the normal distribution were found, Mann–Whitney tests were performed. All values shown in the text, tables, and figures represent mean values \pm SD.

Open-source software R version 4.1.2 was used to analyze group differences (XLH vs control) in the correlation between 2 variables, in other words volumes of quadriceps muscles referred to body height (see Fig. 6) and maximum isokinetic torque referred to volume of the quadriceps muscle or to body mass, respectively (see Fig. 7).

Results

Anthropometric Data and Body Composition

Participants of the XLH group and the control group were matched for age, sex, and body weight. There were no significant between-group differences regarding these parameters. However, while participants in the XLH group were significantly shorter than the controls ($P = .002$) and had significantly lower absolute skeletal muscle mass ($P = .033$), their skeletal muscle mass index (skeletal muscle mass adjusted to

height squared) was no different from the controls (XLH 10.3 ± 1.3 kg/m², control 10.9 ± 1.5 kg/m², $P = .332$).

Patients in the XLH group had insignificantly higher average values for BMI ($P = .390$) and body fat percentage ($P = .090$). Details are provided in Table 1.

Laboratory Parameters of Mineral and Bone Metabolism, Renal Function, Tissue Integrity, and Energy Metabolism

Serum levels of phosphate were significantly lower in the XLH group than in controls ($P < .001$) while levels of cFGF23 were significantly elevated in the XLH group ($P < .001$). Participants in the XLH group exhibited significantly reduced TRP and TmP/GFR ($P < .001$). The serum levels of native vitamin D were significantly lower in controls vs XLH ($P = .016$), while active vitamin D was not significantly different between both groups ($P = .114$). Furthermore, there were no significant differences regarding serum concentrations of calcium, sodium, and potassium. However, serum ALP activity was significantly elevated in the XLH group ($P = .004$), along with significantly increased serum levels for PTH ($P < .001$) and NTX ($P = .002$). Serum levels for thyroid-stimulating hormone, γ -glutamyltransferase, glutamate oxaloacetate transaminase, and glutamate pyruvate transaminase as well as LDH did not show any significant differences. Similarly, there were no significant between-group differences regarding serum creatinine, CK, total protein, and blood glucose levels. See Table 2 for details.

Phosphate Metabolites in Muscle Measured With ³¹P-MRS

Results of comparative analyses regarding phosphate metabolites are illustrated in Fig. 3. One female patient with XLH with an extremely high BMI could not be examined in the MR magnet because she could not fit into the gantry without causing pain in her hips. Overall, ³¹P-MRS measurements revealed a significantly higher PCr/Pi ratio of (mean \pm SD) 13.44 ± 3.22 in the XLH group vs 11.01 ± 2.62 in controls ($P = .023$). Further parameters and ratios did not show significant between-group differences, specifically the Pi/ATP ratio (XLH: $.20 \pm 0.04$, control: 0.23 ± 0.05 , $P = .117$), PCr/ATP (XLH: 2.58 ± 0.50 , control: 2.39 ± 0.34 , $P = .324$), and intracellular pH (XLH: 7.02 ± 0.03 , control: 7.02 ± 0.03 ,

Table 1. Anthropometric data and body composition

	XLH	Control	Total	P value
Age (years)	47.1 \pm 11.1	47.5 \pm 8.5	47.3 \pm 9.7	.906 ^a
Sex (men/women)	6/7	6/7	12/14	1.000 ^a
Height (cm)	155.8 \pm 8.8	168.2 \pm 9.6	162.0 \pm 11.0	.002 ^a
Body mass (kg)	80.4 \pm 17.4	86.9 \pm 28.0	83.6 \pm 23.1	.486 ^a
Body mass index (kg/m ²)	33.6 \pm 9.4	30.7 \pm 9.5	32.2 \pm 9.4	.390 ^b
Body fat (%)	42.2 \pm 11.3	33.8 \pm 12.4	37.8 \pm 12.4	.090 ^a
Skeletal muscle mass (kg)	25.1 \pm 4.3	31.1 \pm 7.0	28.2 \pm 6.5	.033 ^b
Skeletal muscle index (kg/m ²)	10.3 \pm 1.3	10.9 \pm 1.5	10.6 \pm 1.4	.332 ^a

Mean values \pm SD.

^aIndependent samples t test.

^bMann–Whitney U test.

Table 2. Minerals, metabolites, hormones and enzymes in serum or urine measured at baseline in patients with XLH and controls reflecting the regulation of minerals, bone metabolism, renal function and tissue integrity

	XLH	Control	P value
Minerals			
Calcium S (2.1-2.6 mmol/L)	2.40 ± 0.18	2.34 ± 0.18	.363 ^a
Potassium S (3.5-5.1 mmol/L)	4.44 ± 0.29	4.36 ± 0.40	.581 ^a
Sodium S (135-150 mmol/L)	142.30 ± 1.65	141.10 ± 5.38	.881 ^b
Phosphate S (0.87-1.45 mmol/L)	0.75 ± 0.18	1.28 ± 0.19	<.001 ^a
Calcium U (mmol/L)	1.62 ± 1.43	2.59 ± 0.92	.052 ^a
Phosphate U (mmol/L)	19.94 ± 10.86	19.40 ± 14.78	.915 ^a
Regulation of calcium and phosphate resorption			
Parathyroid hormone (14.9-56.9 ng/L)	77.31 ± 62.01	33.00 ± 10.15	.001 ^b
Thyroid-stimulating hormone (0.27-4.20 μU/L)	1.52 ± 0.87	1.73 ± 0.64	.482 ^a
Urine calcium/creatinine ratio < 0.57	0.36 ± 0.41	0.33 ± 0.16	.269 ^b
Tubular reabsorption of phosphate (82-90%)	0.67 ± 0.14	0.87 ± 0.05	<.001 ²
TmP/GFR (0.87-1.45 mmol/L)	0.50 ± 0.10	1.17 ± 0.21	<.001 ^b
Bone metabolism			
25-OH vitamin D (20-40 ng/mL)	28.65 ± 10.35	19.53 ± 7.44	.016 ^a
1,25-OH vitamin D (15.2-90.1 pg/mL)	42.22 ± 21.45	53.85 ± 13.81	.114 ^a
N-terminal-telopeptide (♀: 6.2-19.0) (♂: 5.4-24.2) (nM BCE/L)	12.19 ± 9.50	5.47 ± 2.95	.002 ^b
C-terminal FGF23 (♀: 44-140) (♂: 34-97) (RU/mL)	558.9 ± 602.5	100.5 ± 51.8	<.001 ^b
Alkaline phosphatase (♀: 42-98) (♂: 53-128) (U/L)	123.80 ± 39.89	80.77 ± 26.37	.004 ^a
Renal function			
Creatinine S (♀: 45-84) (♂: 59-104) (μmol/L)	75.38 ± 27.91	79.38 ± 14.61	.651 ^a
Enzymes and metabolites S			
Creatine kinase (♀: 0-167) (♂: 0-190) (U/L)	114.50 ± 67.49	119.80 ± 69.49	.845 ^a
γ-Glutamyltransferase (♀: 0-39) (♂: 0-66) U/L	24.58 ± 7.20	30.92 ± 12.88	.147 ^a
Glutamate oxaloacetate transaminase (♀: 0-35) (♂: 0-50) U/L	19.38 ± 3.89	21.54 ± 5.13	.239 ^a
Glutamate pyruvate transaminase (♀: 0-35) (♂: 0-50) U/L	21.54 ± 5.97	26.00 ± 11.14	.455 ^b
Lactate dehydrogenase (120-240 U/L)	179.00 ± 44.26	180.60 ± 38.24	.922 ^a
Total protein (60-84 g/L)	71.08 ± 4.57	70.55 ± 5.96	.411 ^b
Glucose WB (70-110 mg/dL)	95.15 ± 13.75	91.15 ± 6.24	.587 ^b

Values represent means ± SD.

Abbreviations: S, serum; U, urine; WB, whole blood.

^aIndependent samples t test.

^bMann-Whitney test.

P = .946) were similar among the groups. For details see Fig. 3.

Volumes of Selected Leg and Hip Muscles

Valid muscle volume scans were available for 12 patients with XLH and 12 controls. Assessments for 1 healthy male and 1 female patient were incomplete and had to be excluded from the volumetric analysis. Except for the m. tensor fascia latae, the m. iliopsoas, and the m. gluteus minimus, the volumes of all examined hip and leg muscles

were significantly smaller in XLH than in controls. After adjustment for stunted growth in XLH by calculating muscle volume per height squared, this difference was no longer significant for most muscles assessed. However, muscle volume was substantially reduced and still significantly lower even after adjustment for reduced body height in XLH concerning the mm. vasti femoris group representing the predominant part of the knee extensor musculature as well as the m. soleus and m. gastrocnemius lat.: the main aspects of the musculature controlling plantar flexion and stabilization of the ankle. Details are provided in Table 3.

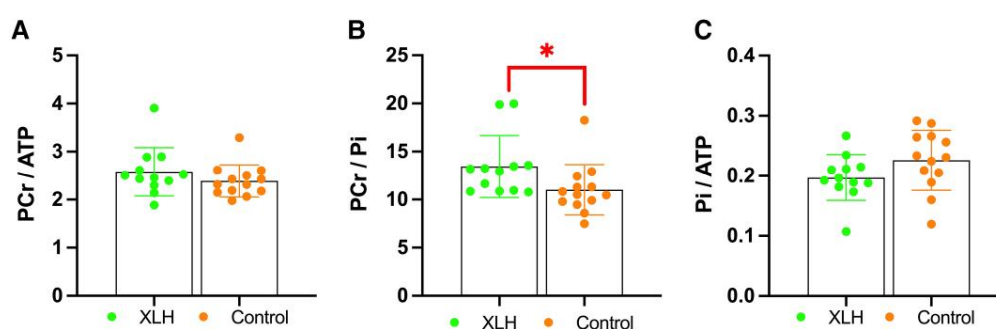


Figure 3. Concentration ratios of PCr/ATP (A), PCr/ Pi (B), and Pi/ATP (C) in the soleus muscle of subjects with XLH and controls at rest calculated from ^{31}P MR spectra. Values are presented as mean \pm SD; * $P < .050$.

Table 3. Volumes of selected hip and leg muscles

	Absolute muscle volume			Muscle volume/height squared		
	XLH (mL)	Control (mL)	<i>P</i> value	XLH (mL/m ²)	Control (mL/m ²)	<i>P</i> value
M. gluteus maximus	677.9 \pm 128.6	889.9 \pm 268.8	.026 ^b	272.0 \pm 36.2	310.2 \pm 72.6	.150 ^b
M. gluteus medius	269.2 \pm 54.4	345.5 \pm 64.4	.006 ^a	107.2 \pm 16.6	112.1 \pm 35.9	.167 ^b
M. gluteus minimus	69.6 \pm 13.4	77.3 \pm 23.1	.337 ^a	27.8 \pm 4.7	27.0 \pm 6.3	.728 ^a
M. iliopsoas	249.0 \pm 73.4	304.6 \pm 78.1	.094 ^a	98.1 \pm 20.1	98.6 \pm 35.1	.531 ^b
M. tensor fasciae latae	57.9 \pm 24.7	67.8 \pm 28.9	.368 ^a	23.7 \pm 10.9	23.6 \pm 9.3	.650 ^b
M. quadriceps femoris	812.1 \pm 309.0	1391.1 \pm 306.2	<.001 ^a	324.3 \pm 102.9	486.9 \pm 65.8	<.001 ^a
M. rectus femoris	153.7 \pm 45.7	200.2 \pm 58.6	.038 ^a	61.7 \pm 14.5	69.5 \pm 13.2	.169 ^a
Mm. vasti femoris	658.4 \pm 265.2	1190.8 \pm 253.1	<.001 ^a	262.6 \pm 90.3	417.3 \pm 56.4	<.001 ^a
M. soleus	328.3 \pm 70.3	457.2 \pm 116.6	.003 ^a	133.2 \pm 22.3	160.3 \pm 32.8	.014 ^b
M. gastrocnemius lateralis	74.87 \pm 24.8	124.1 \pm 50.5	.006 ^a	29.9 \pm 8.0	43.46 \pm 16.2	.016 ^b
M. gastrocnemius medialis	142.3 \pm 39.7	204.3 \pm 74.3	.046 ^b	57.1 \pm 12.8	71.7 \pm 23.7	.071 ^a

Values represent mean values \pm SD.

^aIndependent samples t test.

^bMann–Whitney U test.

Maximum Torque During Voluntary, Isokinetic Knee Extension at 60°/second

Isokinetic knee extension maximum torque was significantly lower in XLH than in controls (XLH: 71 \pm 30 Nm, control: 145 \pm 50 Nm, $P < .001$). When maximum torque was normalized to the individual body mass, the performance of XLH was only 52% of the control value (XLH: 0.84 \pm 0.38 Nm/kg, control: 1.71 \pm 0.56 Nm/kg, $P < .001$), indicating for XLH an impaired knee extension force with respect to the body mass to be accelerated during motion (see Fig. 4). Furthermore, this difference was also statistically significant after adjustment for body height (XLH: 0.45 \pm 0.18 Nm/cm, control: 0.86 \pm 0.25 Nm/cm, $P < .001$).

Muscle Fatigue During 20 Times Repeated Voluntary Isokinetic Knee Extension at 180°/seconds

The torque maximum at 180°/second, which was typically reached within the first 4 repetitions, and was significantly lower in XLH than in controls (XLH: 68 \pm 8 Nm, control: 112 \pm 8 Nm, $P < .001$); this difference was still statistically significant after adjustment for body weight (XLH: 0.87 \pm 0.28 Nm/kg, control: 1.35 \pm 0.46 Nm/kg, $P = .003$) and height (XLH:

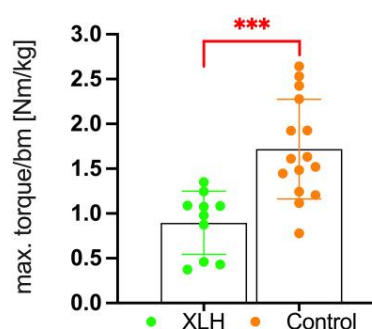


Figure 4. Maximum voluntary torque determined during isokinetic knee extension at 60°/seconds angular velocity. Values are normalized on individual body mass. Values are presented as mean \pm SD, *** $P < .001$.

0.43 \pm 0.14 Nm/cm, control: 0.66 \pm 0.16 Nm/cm, $P = .001$). However, the indicator of relative fatigue, which was the relative decrease of torque between the initial torque maximum and the mean of the torque maxima during the last 3 of 20 repetitions, was not significantly different between groups ($P = .295$, see Fig. 5B). The corresponding increase in electromyography (EMG) amplitude, indicating an increase in motor

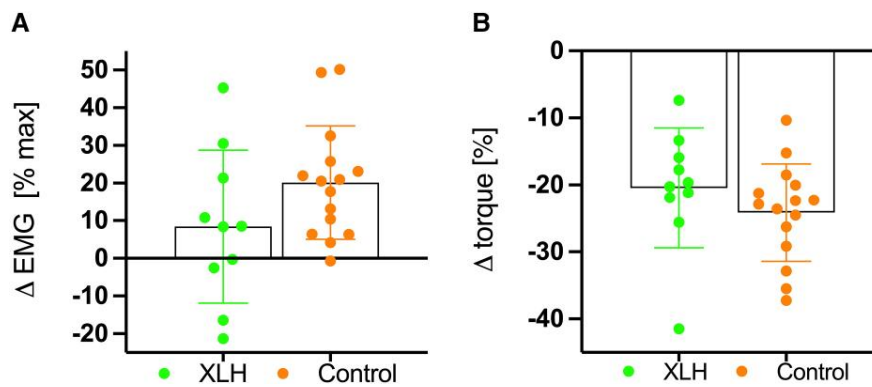


Figure 5. Increase in motor unit recruitment measured as EMG RMS amplitude (A) and the decrease in torque (B) measured as mean of the last 3 out of 20 maximum isokinetic knee extensions at 180°/seconds angular velocity. Both values individually refer in percent to the corresponding value that was measured the contraction with maximum torque. Maximum torque was typically reached between the first and the fourth contraction. Values are presented as mean \pm SD.

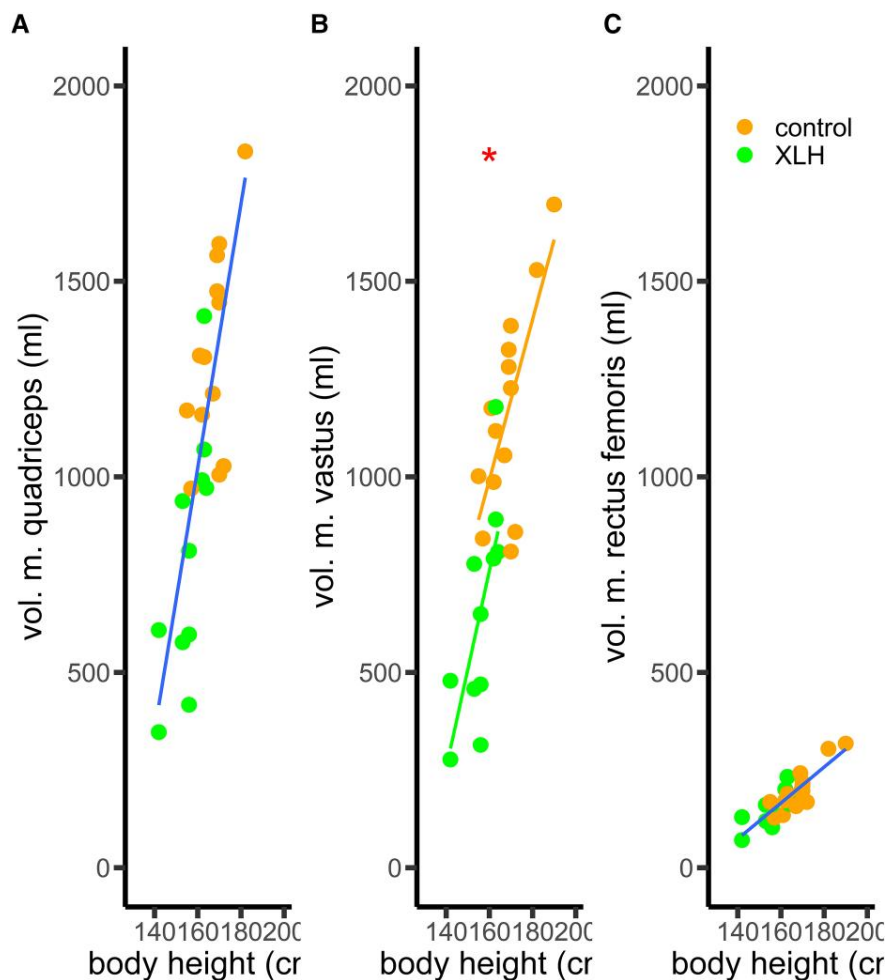


Figure 6. Volumes of the quadriceps muscles correlated with the subjects' body height. In both the XLS and the control group, shorter subjects had smaller muscles. The correlation for the entire quadriceps muscle (A) showed a borderline difference between groups ($P_{\text{group}} = .058$, $r^2 = 0.709$, $P_{\text{corr}} < .001$). In the vastus muscle group (B) this group difference in correlation reached significance ($*P_{\text{group}} = .026$; XLH: $r^2 = 0.462$, $P_{\text{corr}} = .013$; control: $r^2 = 0.476$, $P_{\text{corr}} = .004$). The correlation between muscle volume and body height for the rectus femoris muscle (C) showed no group difference ($P_{\text{group}} = .341$, $r^2 = 0.732$, $P_{\text{corr}} < .001$).

unit recruitment, was also not significantly different between the 2 groups ($P = .147$, see Fig. 5A). However, while some of the XLH group participants exhibited a decrease in motor unit recruitment, this was not observed in controls.

Performance of Countermovement Jumps

Jumping performance results were significantly inferior in XLH compared with controls for peak power ($P < .001$), peak power/body mass ($P < .001$), peak force ($P < .026$),

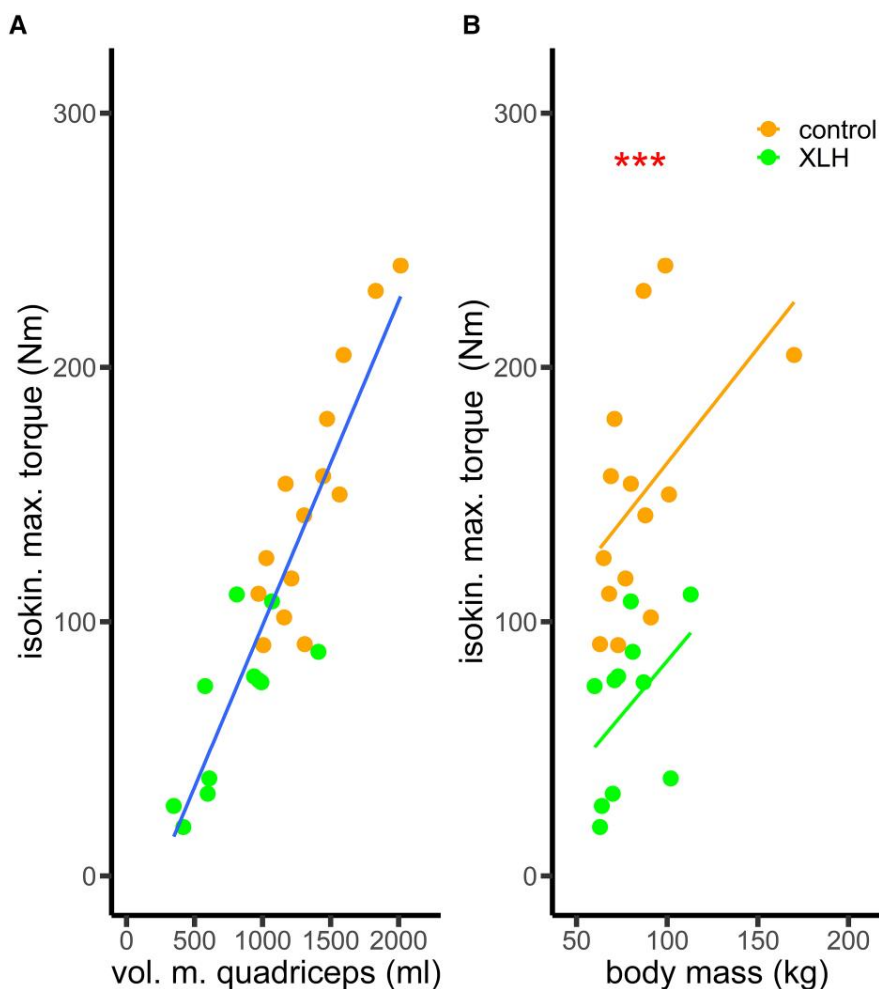


Figure 7. Maximum isokinetic torque of knee extension correlated with the corresponding volume of the m. quadriceps (A) and the subjects' body mass (B). Maximum isokinetic torque correlates with muscle volume without a significant group difference for XLH and control ($P_{\text{group}} = .153$, $r^2 = 0.817$, $P_{\text{corr}} < .001$). However, the relation between body mass and maximum torque highly significantly differs between groups ($P_{\text{group}} < .001$). In both groups significant a correlation between maximum torque and body mass was not found (XLH: $P_{\text{corr}} = .175$, $r^2 = 0.105$; control: $P_{\text{corr}} = .068$, $r^2 = 0.190$).

jump height ($P < .001$), and Esslinger fitness index ($P < .001$). The group difference of peak force/body mass did not quite reach significance. Details are provided in Table 4.

Linear Correlation of Knee Extensor Muscle Volume and the Body Height in Group Comparison

Considering people with XLH having short stature and specifically shorter limbs and thus shorter knee extensor muscles than controls, the correlation of quadriceps muscle volume to body height was not significantly different (analysis of variance [ANOVA] on group $P = .058$, Fig. 6A). A concordant correlation was also found for the rectus femoris muscle, as a component of the quadriceps muscle (ANOVA $P = .341$, Fig. 6C). However, focusing on the 3 heads of the vastus femoris group, we found a significant difference between XLH and controls in the correlations of muscle volume and body height (ANOVA $P = .026$, Fig. 6B), showing that for patients with XLH, this component of the quadriceps muscles was smaller than in controls even after adjustment for body height.

Group Comparison of Linear Correlation Between Maximum Torque, Muscle Volume, Strength, and Body Mass

In both groups, isokinetic maximum torque at $60^\circ/\text{second}$ increased with the volume of the quadriceps muscle with no group difference between the correlation models (ANOVA on group $P = .154$, Fig. 7A). However, in XLH the strength of knee extensor muscles was significantly lower with respect to body mass than in controls, and in both groups maximum torque and body mass did not significantly correlate with each other (see Fig. 7B).

Discussion

While functional restraints and compromised physical performance are well-studied characteristics of XLH in adults, the underlying pathophysiological mechanisms are not completely resolved. In order to better understand actual muscular deficits in patients with XLH and to specifically elucidate if these are associated with deficient intramyocellular availability of Pi or phosphoric compounds, this study compared ^{31}P -MRS and exercise-based muscular assessments in affected

Table 4. Parameters of performance during the countermovement jump

	XLH	Controls	P value
Peak power (kW)	1.648 ± 0.67	2.744 ± 0.58	<.001 ^a
Peak power/body mass (W/kg)	20.87 ± 8.42	32.34 ± 5.40	<.001 ^a
Peak force (kN)	1.460 ± 0.24	1.842 ± 0.53	.026 ^a
Peak force/body mass (g)	16.92 ± 5.07	19.99 ± 6.75	.055 ^b
Jump height (mm)	190.1 ± 80.8	303.4 ± 67.4	<.001 ^a
Esslinger fitness index (%)	49.31 ± 15.80	77.56 ± 13.24	<.001 ^b

Values represent mean values ± SD. For each subject the best value was chosen that was reached with 3 jump trials.

^aIndependent samples t test.

^bMann-Whitney U test.

adult patients and age, sex, and body weight–matched healthy controls.

Regarding intramyocellular phosphate metabolites, the results presented here do not confirm the hypothesis of deficient concentrations of Pi or phosphoric compounds as a major cause of altered muscle energy metabolism, force development, or fatigability. In both groups, the obtained phosphorus spectra from soleus muscle at rest were of equal quality and ratios of concentrations, and the intracellular pH in general did not show significant differences between groups, except for a moderately higher PCr/Pi ratio in the XLH patient group. However, since the PCr/Pi ratio in resting muscles is known to depend on the fiber type composition (21, 22), attributing this finding to a disease-related reduction of intramyocellular Pi is unlikely, specifically considering the absolute difference is low and in case of supposed pathognomonic difference, larger disparities were to be expected. Accordingly, we would rather assume this to be better explained by a slightly higher proportion of fast twitch fibers in patients with XLH (21, 22) in order to compensate for overall reduced muscular capacity resulting from lower physical activity of patients in comparison with controls (15, 16). If this interpretation is correct, the observed deficit in jumping power in patients with XLH was of even greater concern, given that jumping performance is supposed to be superior in people with predominance of fast twitch fibers like, for instance, in sprint-trained athletes (23).

As a technical limitation, phosphorus concentrations had to be assessed in arbitrary units, since calculation of absolute concentrations would require separate measurements of standard solutions, mimicking MR conditions within the cytosol of the muscle fiber, or the beta signal of ATP as an internal standard (24, 25), and both means of quantification would require identical conditions in all participants, which is not warranted here. Consequently, the results do not allow for meaningful interindividual comparisons and would require a muscle biopsy.

Further, since the PCr/Pi ratio is considered to be an indicator of mitochondrial function (26) with levels typically declining upon exercise, the fact that we do not have data on the dynamics of this parameter upon exercise is another important limitation that should be considered in future studies. Considering animal data on reduced ATP synthetic flux in hypophosphatemia, it is conceivable that despite unremarkable findings at resting state, deficits may become apparent upon exercise with deficient regeneration of ATP and/or PCr (13). Thus, in order to unravel potential differences regarding

the time course of depletion and specifically recovery of phosphatic compounds in XLH, future studies should assess these spectra at various time intervals following different types of exercise intervention.

Laboratory evaluations confirmed typical disease-specific alterations in all patients with XLH, including elevated levels of FGF23 and deficient circulating phosphate along with compromised indicators of renal phosphate absorption (1). Consequently, elevated ALP and increased levels of NTX appear indicative of increased bone turnover due to hypophosphatemic osteomalacia, specifically since active and native vitamin D levels were balanced in both groups, and native vitamin D as an indicator of appropriate supply was even higher in patients than in controls due to consequent supplementation.

Interestingly, despite the equivalent calcium levels in serum in both groups, urinary calcium concentration was lower in patients with XLH. Whether this is solely a consequence of elevated PTH or potentially enhanced by increased FGF23 levels acting on TRPV5 in the distal tubule should be evaluated in further studies. The clinical sequelae of XLH-associated rickets and osteomalacia on bone geometry in this cohort were described in a previous manuscript (18).

Baseline CK values were normal and equal in both groups, affirming that none of the participants had suffered acute muscle damage before the assessments. Similarly, there were no differences regarding LDH and hepatic transaminases.

The volume of hip and leg musculature in subjects with XLH was significantly smaller in comparison with muscles of control subjects, who were matched for age, sex, and body weight. The smaller muscle volume was largely attributable to the smaller body height of patients with XLH. However, for major and functionally critical muscle groups like the m. quadriceps femoris and specifically the vastus group as well as the mm. soleus and gastrocnemius lat., this study revealed significant reductions of muscle volume even after adjustment of body height. Considering that a relevant impact of alterations of the leg alignment and specifically the Q-angle on thigh muscle volume which could be assumed in XLH has been ruled out earlier (27), this appears most likely to be a consequence of deconditioning associated atrophy. In line with that, muscle volume of subjects with XLH was also much smaller than in controls when adjusted for body weight.

In both, XLH and controls the maximum isokinetic knee extension torque followed the same correlation with the volume of the entire quadriceps muscle. However, maximum torque and torque normalized to body mass were much lower in XLH than in controls, indicating deficient muscular power. Furthermore, maximum torque was also significantly lower in XLH than in controls after adjustment for reduced body height in XLH. Based on that, it appears reasonable to conclude that this deficit in torque of patients with XLH predominantly results from the lower muscle volume following disuse associated atrophy rather than an intrinsic muscle problem. This is further supported by the observation that characteristics of fatigue were similar in both groups and all patients with XLH, except for 1, could finish the complete set of 20 repetitions of maximum knee extension and flexion at a contraction velocity of 180°/seconds, although at distinctly lower force levels in the XLH group.

Accordingly, we hypothesize that reduced performance, specifically reduced force of hip and leg muscles in subjects with XLH, predominantly result from an adaptation to disuse rather than to a specific phosphate deficiency. However,

compromised biomechanics owing to skeletal deformities and early-onset osteoarthritis in patients with XLH with both leading to inferior physical performance may also have contributed to the above differences.

In a previous study, Veilleux et al reported functional data on muscle weakness as an inherent clinical aspect of hypophosphatemic rickets (11). While confirming these functional observations and expanding the spectrum of assessments, our data could specifically show that muscular deficits in XLH are predominantly due to compromised utilization abetted by deformities, early osteoarthritis, and pain rather than a consequence of deficient muscle energetics and metabolism.

In line with that, the vast majority of patients with XLH in this study had undergone orthopedic surgery and had long-standing bone and joint problems, which all together can readily explain such behavioral adaptations of the musculature. The reduced mobility of patients with XLH would also provide a reasonable explanation for the very high BMI and increased proportional body fat content in most of the participants, which again imposes a high risk of secondary health issues related to metabolic syndrome.

Considering the musculature of persons with XLH is physiologically healthy and not directly affected by the deficiency in circulating phosphate, preventive measures including physiotherapy and muscle training appear feasible and a promising approach to avert deficits in physical performance and to avoid overweight-related and immobility-associated health issues. Accordingly, early optimal treatment to correct phosphate wasting, prevent skeletal deformities and support an active lifestyle appear pivotal to facilitate lifelong mobility.

Conclusions

We encountered no primary phosphate deficiency in XLH muscle. Decreased physical performance in XLH appears to be associated with reduced muscle volume and low muscle strength, most likely resulting from adaptive processes to lifelong disease putatively owing to the skeletal phenotype. Accordingly, optimized metabolic control of the disease along with regular physical activity could prevent muscular deterioration in patients with XLH.

Acknowledgments

We thank Friederike Körber and Mirko Rehberg for their support in the planning phase and Wolfram Sies for his engagement in *enviHab*. We also thank the Institute of Medical Statistics and Computational Biology at University of Cologne for their kind support.

Funding

Aspects of this study have been supported by third-party funding from Kyowa Kirin GmbH. Additional funding included the Research Track Award of the medical faculty of university of Cologne to Johannes Alexander Serhan Kara and DLR-internal funding (cost object 2047030).

Author Contributions

Data collection: J.A.S.K., J.Z., J.R., W.S., L.S. Drafting manuscript: J.A.S.K., J.Z. Revising manuscript: J.R., O.S., L.S. Supervision: J.Z., J.R., L.S. Planning of study: J.A.S.K., J.R., J.Z., O.S., L.S.

Disclosures

L.S. has received honoraria for lectures and advice and research grants to the institution from KyowaKirin. All other authors report no conflict of interest to disclose. Aspects of this research have been supported by third-party funding from Kyowa Kirin GmbH.

Data Availability

The data that support the findings of this study are not publicly available due to them containing information that could compromise the privacy of research participants. Nonidentifying data can be made available on reasonable request from the corresponding author (L.S.).

Registration of the Study

The study was registered at the German Register for Clinical Studies (Deutsches Register Klinischer Studien) (registered January 27, 2020). Registration no.: DRKS 00016074.

Compliance With Ethical Standards

Ethics approval for the study was obtained from the ethics committees of the medical faculties at the Universities of Cologne (No. 19-1020) and Würzburg (128/19).

This research is in accordance with the principles set out in the Declaration of Helsinki.

References

- Haffner D, Emma F, Eastwood DM, *et al*. Clinical practice recommendations for the diagnosis and management of X-linked hypophosphataemia. *Nat Rev Nephrol*. 2019;15(7):435-455.
- Carpenter TO, Imel EA, Holm IA, *et al*. A clinician's guide to X-linked hypophosphatemia. *J Bone Miner Res*. 2011;26(7):1381-1388.
- Beck-Nielsen SS, Mughal Z, Haffner D, *et al*. FGF23 and its role in X-linked hypophosphatemia-related morbidity. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14(1):58.
- Yamazaki M, Michigami T. Osteocytes and the pathogenesis of hypophosphatemic rickets. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:1005189. eCollection.
- Barros NM, Hoac B, Neves RL, *et al*. Proteolytic processing of osteopontin by PHEX and accumulation of osteopontin fragments in hyp mouse bone, the murine model of X-linked hypophosphatemia. *J Bone Miner Res*. 2013;28(3):688-699.
- Skrinar A, Dvorak-Ewell M, Evins A, *et al*. The lifelong impact of X-linked hypophosphatemia: results from a burden of disease survey. *J Endocr Soc*. 2019;3(7):1321-1334.
- Seefried L, Smyth M, Keen R, *et al*. Burden of disease associated with X-linked hypophosphataemia in adults: a systematic literature review. *Osteoporos Int*. 2021;32(1):7-22.
- Kushmerick MJ. Energy balance in muscle activity: simulations of ATPase coupled to oxidative phosphorylation and to creatine kinase. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 1998;120(1):109-123.
- Wackerhage H, Hoffmann U, Essfeld D, *et al*. Recovery of free ADP, Pi, and free energy of ATP hydrolysis in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 1998;85(6):2140-2145.
- Berndt T, Kumar R. Phosphatonins and the regulation of phosphate homeostasis. *Annu Rev Physiol*. 2007;69(1):341-359.
- Veilleux LN, Cheung MS, Glorieux FH, *et al*. The muscle-bone relationship in X-linked hypophosphatemic rickets. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(5):E990-E995.

12. Veilleux LN, Cheung M, Ben Amor M, *et al.* Abnormalities in muscle density and muscle function in hypophosphatemic rickets. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(8):E1492-E1498.
13. Pesta DH, Tsirigotis DN, Befroy DE, *et al.* Hypophosphatemia promotes lower rates of muscle ATP synthesis. *FASEB J.* 2016;30(10):3378-3387.
14. Grehl T, Müller K, Vorgerd M, *et al.* Impaired aerobic glycolysis in muscle phosphofructokinase deficiency results in biphasic post-exercise phosphocreatine recovery in ³¹P magnetic resonance spectroscopy. *NeuromuscDisord.* 1998;8(7):480-488.
15. Dumitru A, Radu BM, Radu M, *et al.* Muscle changes during atrophy. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1088:73-92.
16. Marusic U, Narici M, Simunic B, *et al.* Nonuniform loss of muscle strength and atrophy during bed rest: a systematic review. *J Appl Physiol (1985).* 2021;131(1):194-206.
17. Seefried L. Supplement: Impaired physical performance in X-linked hypophosphatemia is not caused by depleted muscular phosphate stores. *J Clin Endocrinol Metab.* 2023. Doi:10.25972/OPUS-30364
18. Scorcelletti M, Kara S, Zange J, *et al.* Lower limb bone geometry in adult individuals with X-linked hypophosphatemia: an observational study. *Osteoporos Int.* 2022;33(7):1601-1611.
19. Davies CT, Rennie R. Human power output. *Nature.* 1968;217(5130):770-771.
20. Rittweger J, Schiessl H, Felsenberg D, *et al.* Reproducibility of the jumping mechanography as a test of mechanical power output in physically competent adult and elderly subjects. *J Am GeriatrSoc.* 2004;52(1):128-131.
21. Kushmerick MJ, Moerland TS, Wiseman RW. Mammalian skeletal muscle fibers distinguished by contents of phosphocreatine, ATP, and Pi. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89(16):7521-7525.
22. Maurer J, Konstanczak P, Sollner O, *et al.* Muscle metabolism of professional athletes using ³¹P-spectroscopy. *Acta Radiol.* 1999;40(1):73-77.
23. Alvero-Cruz JR, Brikis M, Chilibeck P, *et al.* Age-related decline in vertical jumping performance in masters track and field athletes: concomitant influence of body composition. *Front Physiol.* 2021;12:643649. eCollection.
24. Kemp GJ, Meyerspeer M, Moser E. Absolute quantification of phosphorus metabolite concentrations in human muscle in vivo by ³¹P MRS: a quantitative review. *NMR Biomed.* 2007;20(6):555-565.
25. Buchli R, Boesiger P. Comparison of methods for the determination of absolute metabolite concentrations in human muscles by ³¹P MRS. *Magn Reson Med.* 1993;30(5):552-558.
26. Greenman RL, Wang X, Smithline HA. Simultaneous acquisition of phosphocreatine and inorganic phosphate images for Pi:PCr ratio mapping using a RARE sequence with chemically selective interleaving. *Magn Reson Imaging.* 2011;29(8):1138-1144.
27. Ema R, Wakahara T, Hirayama K, *et al.* Effect of knee alignment on the quadriceps femoris muscularity: cross-sectional comparison of trained versus untrained individuals in both sexes. *PLoS One.* 2017;12(8):e0183148.

4. Diskussion

4.1 Ergebnisdiskussion

Die hier präsentierten Ergebnisse zeigen deutlich, dass der Mangel an intramyozelluläre Konzentrationen an anorganischem Phosphat und Phosphorverbindungen bei den XLH-Erkrankten nicht die primäre Ursache für den veränderten Muskelenergiestoffwechsel und damit verbundene Muskelschwäche ist.

Die Phosphorspektren aus beiden Gruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede, außer einem moderat erhöhten PCr/Pi-Quotient. Da das PCr/Pi-Verhältnis in ruhenden Muskeln jedoch bekanntermaßen von der Fasertypzusammensetzung abhängt⁴⁷, ist es unwahrscheinlich, diesen Befund auf eine krankheitsbedingte Reduktion des intramyozellulären Pi zurückzuführen ist, insbesondere wenn man den geringen absoluten Unterschied und die im Falle einer angenommenen pathognomonischen Differenz zu erwartenden größeren Diskrepanzen berücksichtigt. Dementsprechend ist es eher durch einen leicht höheren Anteil an schnell zuckenden Fasern bei XLH-Erkrankten erklärbar, um die insgesamt reduzierte Muskelkapazität aufgrund der geringeren körperlichen Aktivität der Patienten im Vergleich zu den Kontrollpersonen auszugleichen^{48,49}. Wenn diese Interpretation korrekt ist, war das beobachtete Defizit in der Sprungkraft bei XLH-Erkrankten von noch größerer Bedeutung, da man davon ausgeht, dass die Sprungleistung bei Menschen mit einem Überwiegen von schnell zuckenden Fasern, wie z.B. bei sprinttrainierten Athleten, überlegen ist⁵⁰.

Die Teilnehmer der XLH-Gruppe und der Kontrollgruppe wurden hinsichtlich Alter, Geschlecht und Körpergewicht angeglichen. In Bezug auf diese Parameter gab es daher keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Allerdings waren die Teilnehmer der XLH-Gruppe signifikant kleiner und hatten eine signifikant geringere absolute Skelettmuskelmasse. Ihr Skelettmuskelmassenindex -die auf die Körpergröße im Quadrat angepasste Skelettmuskelmasse- unterschied sich jedoch nicht von der Kontrollgruppe. Dies deutet darauf hin, dass die relative Muskelmasse im Verhältnis zur Körpergröße bei XLH-Patienten vergleichbar mit der Kontrollgruppe ist. Weiterhin wurden tendenziell höhere Durchschnittswerte für den BMI und den Körperfettanteil in der XLH-Gruppe beobachtet, jedoch ohne signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe. Dies könnte auf eine höhere Fettmasse bei den XLH-Patienten hindeuten, was möglicherweise auf den reduzierten körperlichen Aktivitätsgrad zurückzuführen ist.

Laborevaluationen bestätigten typische krankheitsspezifische Veränderungen bei allen XLH-Erkrankten, einschließlich erhöhter FGF23-Werte und mangelhaftem zirkulierendem Phosphat, und Gesamtbild einer beeinträchtigten renalen Phosphatabsorption²². Erhöhte ALP und NTX-

Werte der XLH-Gruppe zeigen einen erhöhten Knochenumsatz im Rahmen der hypophosphatämischer Osteomalazie.

Die aktiven und nativen Vitamin-D-Spiegel in beiden Gruppen waren ausgeglichen und das native Vitamin D war sogar substitutionsbedingt bei der XLH-Gruppe höher.

Trotz eines äquivalenten Kalziumspiegels im Serum in beiden Gruppen zeigte die Kalziumkonzentration im Urin bei XLH-Patienten einen niedrigeren Spiegel. Ob dies ausschließlich einer Folge der PTH-Erhöhung ist oder möglicherweise durch einen erhöhten FGF23-Spiegel -der auf TRPV₅ im distalen Tubulus wirkt- verstärkt wird, sollte in weiteren Studien untersucht werden.

Ebenso gab es keine Unterschiede in Bezug auf LDH und hepatische Transaminasen.

Das Volumen der Hüft- und Beinmuskulatur bei XLH-Erkrankten war signifikant kleiner. Das geringere Muskelvolumen war größtenteils auf die kleinere Körpergröße der XLH-Erkrankten zurückzuführen. Diese Studie zeigte vor allem für große Muskelgruppen wie den *M. quadriceps femoris* auch nach Anpassung an die Körpergröße deutlich signifikante Unterschiede des Muskelvolumens. In Anbetracht der Tatsachen scheint der Volumenunterschied höchstwahrscheinlich eine Folge von dekonditionierungsbedingter Atrophie zu sein⁵¹. Das Muskelvolumen der XLH-Erkrankten war auch korreliert auf das Körpergewicht kleiner als bei Kontrollpersonen.

Sowohl bei XLH-Erkrankten als auch bei den Kontrollpersonen, folgte die Korrelation zwischen dem maximalen isokinetischen Drehmoment der Knieextension und dem Volumen des *M. quadriceps* der gleichen Funktion. Das heißt die körperlich kleineren Patienten hatten kleinere Muskeln, die proportional zu ihrem kleineren Volumen schwächer waren. Allerdings lag die Korrelation zwischen dem maximalen Drehmoment und der Körpermasse bei XLH-Gruppe signifikant unterhalb der Funktion der Kontrollpersonen. Die Muskelkraft ist bei XLH also nicht an die Körpermasse angepasst. Da das Verhältnis aus Maximalkraft und Körpermasse als ein Maß für die Beschleunigung des Körpers angesehen werden kann, belegt die niedrigere Korrelation zwischen Drehmoment und Körpermasse eine geringere Beschleunigungsfähigkeit und damit auch eine geringere Mobilität der XLH-Patienten. In Bezug auf die zu bewegende Körpermasse ist aber die Folge einer zu geringen körperlichen Aktivität und/oder eines zu hohen Körpergewichtes und kein primäres intrinsisches Muskelproblem. Dass der *M. quadriceps* bei XLH kein Stoffwechselproblem zeigt, wird durch die Beobachtung unterstützt, dass die Kinetik der Ermüdung beim isokinetischen Ausdauerstest in beiden Gruppen ähnlich waren, und dass alle XLH-Erkrankten -bis auf einen- den vollständigen Satz von 20 Wiederholungen der maximalen Knieextension und -flexion bei einer Kontraktionsgeschwindigkeit von 180 °/s erfolgreich abschließen konnten, wenn auch bei der XLH-Gruppe auf einem deutlich niedrigeren Kraftniveau.

Dementsprechend besteht die Annahme, dass die reduzierte Leistung, insbesondere die verminderte Kraft der Hüft- und Beinmuskulatur bei XLH-Patienten, hauptsächlich auf eine Anpassung an Inaktivität und nicht auf einen spezifischen Phosphatmangel zurückzuführen ist, wobei jedoch auch eine beeinträchtigte Biomechanik aufgrund von Skelettdeformationen und früh beginnender Arthrose bei XLH-Erkrankten, die beide zu einer geminderten körperlichen Leistung führen, zu den genannten Unterschieden beigetragen haben könnte⁵². In einer früheren Studie berichteten *Veilleux et al*¹⁹ bereits über funktionale Muskelschwäche als inhärenten klinischen Aspekt von XLH. Während unsere Daten diese nur funktionalen Beobachtungen bestätigen und das Spektrum der Bewertungen erweitern, konnten wir spezifisch aufzeigen, dass Muskeldefizite bei XLH hauptsächlich auf eine beeinträchtigte Nutzung zurückzuführen sind, die durch Deformationen, früh einsetzende Skelettveränderungen und Schmerzen verstärkt wird, und nicht auf eine Folge von Defiziten in der Muskelenergetik und dem Stoffwechsel.

Die Mehrheit der XLH-Gruppe hatte bereits chirurgische Eingriffe und langanhaltende Knochenprobleme, was Verhaltensanpassungen der Muskulatur und einen hohen BMI durch eingeschränkte Mobilität erklärt, was wiederum ein Risiko für sekundäre Gesundheitsprobleme wie Adipositas und metabolisches Syndrom darstellt.

Unter Berücksichtigung der physiologischen Integrität der Muskulatur bei Personen mit XLH, die nicht direkt von Phosphatmangel im Blutkreislauf betroffen ist, erscheinen präventive Interventionen wie Physiotherapie und Muskelaufbautraining als aussichtsreiche Strategien, um Beeinträchtigungen der physischen Performance zu verhindern und gesundheitliche Komplikationen, die durch Übergewicht und Immobilität entstehen können, zu umgehen. Daher ist eine frühzeitige und optimale Therapie zur Korrektur des Phosphatverlusts, Prävention von Skelettdeformationen und Förderung eines aktiven Lebensstils von entscheidender Bedeutung, um eine dauerhafte Mobilität zu gewährleisten.

4.2 Methodendiskussion

Die Bestimmung der Phosphorkonzentrationen wurde in dieser Studie als Verhältniszahlen gemessen, da eine Bestimmung der absoluten Konzentrationen ohne Muskelbiopsie aus technischen Gründen nicht möglich ist^{53,54}. Außerdem ist es wichtig zu betonen, dass eine exakte Quantifizierung identische Bedingungen bei allen Teilnehmern voraussetzt, eine Annahme, die hier nicht gegeben ist. Das PCr/Pi-Verhältnis ist ein etablierter Indikator für die mitochondriale Funktion und zeigt eine abnehmende Tendenz bei körperlicher Aktivität⁵⁵. In dieser Studie wurden während der ³¹P-MRS keine dynamischen Daten während Muskelarbeit und der anschließenden Erholung erhoben. Für künftige Forschungsarbeiten sollte eine Auswertung während und nach der Muskelarbeit berücksichtigt werden.^{43,56}.

Es ist zudem erwähnenswert, dass eine XLH-Patientin mit *Adipositas per magna* aufgrund von Hüftschmerzen nicht in den MRT-Magneten passte und somit von der Untersuchung ausgenommen werden musste.

Es ist zu bedenken, dass diese Studie durch eine begrenzte Stichprobengröße und das Fehlen von längsschnittlichen Beobachtungen eingeschränkt ist. Zukünftige Studien mit größerem Stichprobenumfang und längerem *Follow-up* sind daher erforderlich, um das Verhältnis zwischen XLH und Muskelfunktion weiter zu erforschen.

Eine Evaluierung der Muskulatur mittels Sprungtest zeigte sich als suboptimale Methodik für eine vergleichende Studie mit gesunden Probanden. Dies ist auf eine Reihe von potenziellen Kofaktoren wie *Adipositas*, Skelettdeformitäten aber auch psychische Faktoren wie Unsicherheit beim Springen zurückzuführen, die die Testergebnisse beeinflussen. Methoden wie der Isokinetik-Test eignen sich für künftige Studien besser, weil sie die potenziellen Störfaktoren minimieren, in dem sie die isolierte Messung einer einzelnen Muskelgruppe ermöglichen.

Außerdem könnte es künftig sinnvoll sein, eine Kontrollgruppe an XLH-Patienten zu etablieren, die frühzeitig mit Burosumab therapiert ist und keine Skelettdeformitäten aufweist. Bereits mit 20 Jahren zeigen die Betroffenen muskuloskelettale Veränderungen und die orthopädischen Eingriffe akkumulieren mit zunehmendem Alter¹⁵.

Die gegenwärtige Studie liefert eine klare Antwort auf eine grundlegende und bisher ungeklärte Frage. Nach Durchführung der statistischen Analyse konnten wir zeigen, dass es bei Erwachsenen mit XLH keinen signifikanten Unterschied in der intramyozellulären Verfügbarkeit von anorganischem Phosphat oder phosphorhaltigen Verbindungen gibt, was darauf hindeutet, dass der Phosphatmangel nicht die primäre Ursache der Muskelschwäche ist.

5. Literaturverzeichnis

1. Bloudeau L, Linglart A, Flammier S, et al. X-linked hypophosphatemia, obesity and arterial hypertension: data from the XLH21 study. *Pediatr Nephrol* 2023; **38**(3): 697-704.
2. ORPHANET online database XLH. https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=89936&lng=DE (Zuletzt abgerufen am 13.04.2023).
3. Raimann A, Kocijan R, Mindler GT. X-linked hypophosphatemia (XLH)-a lifelong condition. *Aust J Clin Endocr M* 2022; **15**(2): 63-8.
4. Beck-Nielsen SS, Brock-Jacobsen B, Gram J, Brixen K, Jensen TK. Incidence and prevalence of nutritional and hereditary rickets in southern Denmark. *Eur J Endocrinol* 2009; **160**(3): 491-7.
5. Endo I, Fukumoto S, Ozono K, et al. Nationwide survey of fibroblast growth factor 23 (FGF23)-related hypophosphatemic diseases in Japan: prevalence, biochemical data and treatment. *Endocr J* 2015; **62**(9): 811-6.
6. An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders, OMIM. <https://omim.org/entry/307800> (Zuletzt abgerufen am 13.04.2023)
7. Sarafrazi S, Daugherty SC, Miller N, et al. Novel PHEX gene locus-specific database: Comprehensive characterization of vast number of variants associated with X-linked hypophosphatemia (XLH). *Hum Mutat* 2022; **43**(2): 143-57.
8. Ruchon AF, Marcinkiewicz M, Siegfried G, et al. Pex mRNA is localized in developing mouse osteoblasts and odontoblasts. *J Histochem Cytochem* 1998; **46**(4): 459-68.
9. Carpenter TO, Imel EA, Holm IA, Jan de Beur SM, Insogna KL. A clinician's guide to X-linked hypophosphatemia. *J Bone Miner Res* 2011; **26**(7): 1381-8.
10. Yamazaki M, Michigami T. Osteocytes and the pathogenesis of hypophosphatemic rickets. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022; **13**: 1005189.
11. Romagnoli C, Iantomasi T, Brandi ML. Impact of X-Linked Hypophosphatemia on Muscle Symptoms. *Genes (Basel)* 2022; **13**(12).
12. Meyerhoff N, Haffner D, Staude H, et al. Effects of growth hormone treatment on adult height in severely short children with X-linked hypophosphatemic rickets. *Pediatr Nephrol* 2018; **33**(3): 447-56.
13. Beck-Nielsen SS, Mughal Z, Haffner D, et al. FGF23 and its role in X-linked hypophosphatemia-related morbidity. *Orphanet J Rare Dis* 2019; **14**(1): 58.
14. Arenas MA, Jaimovich S, Perez Garrido N, et al. Hereditary hypophosphatemic rickets and craniosynostosis. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2021; **34**(9): 1105-13.
15. Javaid MK, Ward L, Pinedo-Villanueva R, et al. Musculoskeletal Features in Adults With X-linked Hypophosphatemia: An Analysis of Clinical Trial and Survey Data. *J Clin Endocrinol Metab* 2022; **107**(3): e1249-e62.
16. Jin X, Xu Y, Liu W, et al. Dental manifestations and treatment of hypophosphatemic rickets: A case report and review of literature. *BDJ Open* 2023; **9**(1): 2.
17. Seefried L, Smyth M, Keen R, Harvengt P. Burden of disease associated with X-linked hypophosphatemia in adults: a systematic literature review. *Osteoporos Int* 2021; **32**(1): 7-22.
18. Theodore-Oklotka C, Bonner N, Spencer H, Arbuckle R, Chen CY, Skrinar A. Qualitative Research to Explore the Patient Experience of X-Linked Hypophosphatemia and Evaluate the Suitability of the BPI-SF and WOMAC(R) as Clinical Trial End Points. *Value Health* 2018; **21**(8): 973-83.
19. Veilleux LN, Cheung MS, Glorieux FH, Rauch F. The muscle-bone relationship in X-linked hypophosphatemic rickets. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; **98**(5): E990-5.
20. Whyte MP, Schranck FW, Armamento-Villareal R. X-linked hypophosphatemia: a search for gender, race, anticipation, or parent of origin effects on disease expression in children. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; **81**(11): 4075-80.
21. Albright F BA, Bloomberg Esther. . Rickets resistant to vitamin D Therapy. . *American Journal of Diseases of Children* 1937; **54**(3): 529-47.
22. Haffner D, Emma F, Eastwood DM, et al. Clinical practice recommendations for the diagnosis and management of X-linked hypophosphatemia. *Nat Rev Nephrol* 2019; **15**(7): 435-55.

23. Steven J Scheinman TC. Hereditary hypophosphatemic rickets and tumor-induced osteomalacia. 2023. <https://www.uptodate.com/contents/hereditary-hypophosphatemic-rickets-and-tumor-induced-osteomalacia?search=x-> (zuletzt abgerufen am 03.08.2023).
24. Glorieux FH, Bonewald LF, Harvey NC, van der Meulen MCH. Potential influences on optimizing long-term musculoskeletal health in children and adolescents with X-linked hypophosphatemia (XLH). *Orphanet J Rare Dis* 2022; **17**(1): 30.
25. Lamb YN. Burosumab: First Global Approval. *Drugs* 2018; **78**(6): 707-14.
26. Imel EA, Glorieux FH, Whyte MP, et al. Burosumab versus conventional therapy in children with X-linked hypophosphatemia: a randomised, active-controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2019; **393**(10189): 2416-27.
27. Insogna KL, Briot K, Imel EA, et al. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial Evaluating the Efficacy of Burosumab, an Anti-FGF23 Antibody, in Adults With X-Linked Hypophosphatemia: Week 24 Primary Analysis. *J Bone Miner Res* 2018; **33**(8): 1383-93.
28. Brandi ML, Jan de Beur S, Briot K, et al. Efficacy of Burosumab in Adults with X-linked Hypophosphatemia (XLH): A Post Hoc Subgroup Analysis of a Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Phase 3 Study. *Calcif Tissue Int* 2022; **111**(4): 409-18.
29. Skrinar A, Dvorak-Ewell M, Evins A, et al. The Lifelong Impact of X-Linked Hypophosphatemia: Results From a Burden of Disease Survey. *J Endocr Soc* 2019; **3**(7): 1321-34.
30. Raimann A, Mindler GT, Kocijan R, et al. Multidisciplinary patient care in X-linked hypophosphatemic rickets: one challenge, many perspectives. *Wien Med Wochenschr* 2020; **170**(5-6): 116-23.
31. Trombetti A, Al-Daghri N, Brandi ML, et al. Interdisciplinary management of FGF23-related phosphate wasting syndromes: a Consensus Statement on the evaluation, diagnosis and care of patients with X-linked hypophosphatemia. *Nat Rev Endocrinol* 2022; **18**(6): 366-84.
32. Hamilton AA, Faitos S, Jones G, Kinsley A, Gupta RN, Lewiecki EM. Whole Body, Whole Life, Whole Family: Patients' Perspectives on X-Linked Hypophosphatemia. *J Endocr Soc* 2022; **6**(8): bvac086.
33. Dictionary OE. <https://www.etymonline.com/word/phosphorus> (accessed (zuletzt abgerufen am 02.11.2023)).
34. Kritmetapak K, Kumar R. Phosphatonins: From Discovery to Therapeutics. *Endocr Pract* 2023; **29**(1): 69-79.
35. Calvo MS, Lamberg-Allardt CJ. Phosphorus. *Adv Nutr* 2015; **6**(6): 860-2.
36. Horn F. Biochemie des Menschen. 5. Auflage ed: Georg Thieme Verlag Stuttgart New York; 2015.
37. Berndt T, Kumar R. Phosphatonins and the regulation of phosphate homeostasis. *Annu Rev Physiol* 2007; **69**: 341-59.
38. V. DGfEe. Empfehlung für Phosphatzufuhr für Erwachsene. 2023. <https://www.dge.de/wissenschaft/referenzwerte/phosphor/?L=0> (zuletzt abgerufen am 09.05.2023).
39. Weisinger JR, Bellorin-Font E. Magnesium and phosphorus. *Lancet* 1998; **352**(9125): 391-6.
40. Bhutta R. A. SNA, Ahmad A., Khan S. Urine for Phosphorus (Phosphates), 24 hours Urine sample. 2023. <https://labpedia.net/urine-for-phosphorus-phosphates-24-hours-urine-sample/> (zuletzt abgerufen am 09.05.2023).
41. Saring H, "Brand, Hennig" in: Neue Deutsche Biographie 2 (1955), S. 515-516 [Online-Version]; URL: <https://www.deutsche-biographie.de/pnd135556473.html#ndbcontent> (zuletzt abgerufen am 02.11.2023).
42. Chance B, Im J, Nioka S, Kushmerick M. Skeletal muscle energetics with PNMR: personal views and historic perspectives. *NMR Biomed* 2006; **19**(7): 904-26.
43. Meyerspeer M, Boesch C, Cameron D, et al. (31) P magnetic resonance spectroscopy in skeletal muscle: Experts' consensus recommendations. *NMR Biomed* 2020; **34**(5): e4246.

44. Seefried L. Supplemental Data to "Impaired Physical Performance in X-linked Hypophosphatemia is not caused by depleted muscular phosphate stores". 2023/03/09. <https://doi.org/10.25972/OPUS-30364>.
45. Scorcelletti M, Kara S, Zange J, et al. Lower limb bone geometry in adult individuals with X-linked hypophosphatemia: an observational study. *Osteoporos Int* 2022; **33**(7): 1601-11.
46. Kara JAS, Zange J, Hoffman F, et al. Impaired Physical Performance in X-linked Hypophosphatemia is not caused by depleted muscular phosphate stores. *J Clin Endocrinol Metab* 2023.
47. Kushmerick MJ, Moerland TS, Wiseman RW. Mammalian skeletal muscle fibers distinguished by contents of phosphocreatine, ATP, and Pi. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; **89**(16): 7521-5.
48. Dumitru A, Radu BM, Radu M, Cretoiu SM. Muscle Changes During Atrophy. *Adv Exp Med Biol* 2018; **1088**: 73-92.
49. Marusic U, Narici M, Simunic B, Pisot R, Ritzmann R. Nonuniform loss of muscle strength and atrophy during bed rest: a systematic review. *J Appl Physiol (1985)* 2021; **131**(1): 194-206.
50. Maurer J, Konstanczak P, Sollner O, et al. Muscle metabolism of professional athletes using ³¹P-spectroscopy. *Acta Radiol* 1999; **40**(1): 73-7.
51. Ema R, Wakahara T, Hirayama K, Kawakami Y. Effect of knee alignment on the quadriceps femoris muscularity: Cross-sectional comparison of trained versus untrained individuals in both sexes. *PLoS One* 2017; **12**(8): e0183148.
52. Orlando G, Bubbear J, Clarke S, et al. Physical function and physical activity in adults with X-linked hypophosphatemia. *Osteoporos Int* 2022; **33**(7): 1485-91.
53. Kemp GJ, Meyerspeer M, Moser E. Absolute quantification of phosphorus metabolite concentrations in human muscle in vivo by ³¹P MRS: a quantitative review. *NMR Biomed* 2007; **20**(6): 555-65.
54. Buchli R, Boesiger P. Comparison of methods for the determination of absolute metabolite concentrations in human muscles by ³¹P MRS. *Magn Reson Med* 1993; **30**(5): 552-8.
55. Greenman RL, Wang X, Smithline HA. Simultaneous acquisition of phosphocreatine and inorganic phosphate images for Pi:PCr ratio mapping using a RARE sequence with chemically selective interleaving. *Magn Reson Imaging* 2011; **29**(8): 1138-44.
56. Deshmukh S, Subhawong T, Carrino JA, Fayad L. Role of MR spectroscopy in musculoskeletal imaging. *Indian J Radiol Imaging* 2014; **24**(3): 210-6.

6. Anhang

6.1 Research Track Projekt Award 2019

Der Fakultätspreis „Research Track Projekt Award 2019“ wurde für dieses Projekt verliehen. Die Unterstützung und Anerkennung der Fakultät sind von unschätzbarem Wert für meine Forschung und werden weiterhin als Inspiration für meine zukünftigen Arbeiten dienen.

Der
**Research Track
Project Award 2019**

wird gemeinsam mit dem Förderkreis Medizin e. V. verliehen an

Herrn Serhan Kara

Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt e. V.
Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin

für das Projekt

**„Muscle Fatigability and X-Linked
Hypophosphatemia (MuXLiH)“**

Köln, den 07.02.2020



Univ.-Prof. Dr. Gereon R. Fink
Dekan der Medizinischen Fakultät
der Universität zu Köln

6.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:

Creative Commons Attribution 4.0 International Lizenz; die Wiederveröffentlichung ist gestattet.

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Figure 1 aus <https://doi.org/10.3390/genes13122415>¹¹

Abbildung 2:

Creative Commons CC BY Lizenz; die Wiederveröffentlichung ist gestattet.

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Figure 1 aus <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1014-8>¹³

6.3 Erlaubnis für die Veröffentlichung im Rahmen der Dissertation

Die Erlaubnis für die Veröffentlichung des Artikels im Rahmen der Dissertation bei der Universität zu Köln wurde am 07.05.2023 mit der Lizenznummer 554350025077 durch das Platform *CCC-Rightlinks* eingeholt.

<https://www.copyright.com>

PMID: 37043477

DOI: 10.1210/clinem/dgad210