

## VALORES NORMALES DE LA FOSFATASA ALCALINA TERMOESTABLE

ENRIQUE A. DÁVILA S. y LUCÍA M. SALAZAR C.

Departamento de Patología, U.N.M.S.M.

---

### RESUMEN

Se determinó la F.A. total, termoestable y termolábil en 100 sujetos aparentemente sanos, 80 hombres y 20 mujeres entre los 18 y 50 años.

Se encontró para la F.A. total una media de  $7.4 \pm 2.45$  y extremos de 2.2 y 14.2 U.K.A.

Para la fracción termoestable una media de  $0.87 \pm 0.46$  y extremos de 0.071 y 3.8 U.K.A.

---

Muchas enzimas como la fosfatasa alcalina, F.A. son de naturaleza proteica y se componen de una fracción proteica (apoenzima) y de un grupo prostético (coenzima) (11).

Se ha comprobado para varias de estas enzimas, una heterogeneidad estructural de la apoenzima en la secuencia de aminoácidos, lo que determina que, a pesar de poseer la misma actividad y especificidad sobre los substratos, puedan separarse, mediante diversos métodos, las llamadas isoenzimas (11). Las isoenzimas poseen diferente estructura molecular pero catalizan las mismas reacciones bioquímicas (24). En el caso de la F.A., por muchos años se sospechó la existencia de múltiples formas de la enzima (8) y más recientemente una considerable heterogeneidad estructural ha sido descrita, no sólo entre enzimas derivadas de diferentes fuentes (23) (ósea, intesti-

nal, hepática, placentaria, etc.) sino también enzimas provenientes de un mismo tejido (23).

La mayoría de los métodos empleados, inmunológicos (9, 16), electroforéticos (3, 5, 10, 11, 13), o químicos (6, 11, 15, 17), para la separación de las diferentes fosfatasas, no son aplicables en el laboratorio clínico (4), o no son lo suficientemente sensibles para determinarlas en la circulación (25), o fallan al tratar de determinar el origen hepático, óseo o de otro origen (27).

El método de separar isoenzimas por su diferente comportamiento frente al calentamiento es bien conocido en el caso de la F.A. y otras enzimas (22, 24, 27). En el caso de la F.A. el componente termoestable ha sido investigado en la enzima de diferentes fuentes, ósea (22, 23, 24, 27), intestinal (1, 21), placentaria (9, 21, 23) y hepática (7, 26), y en el

suelo sanguíneo de sujetos normales de ambos sexos (27), así como en embarazo normal y patológico (2, 21, 22).

El presente trabajo tiene como objetivo determinar los valores normales de la isoenzima termoestable de la F.A. por el método de King-Armstrong, para poder evaluar su comportamiento en diferentes cuadros de la patología, especialmente en patología hepática en donde parece tener indudable importancia (13).

### MATERIAL Y METODOS

Las determinaciones de  $FAT_t$ ,  $FAT_c$  y  $FAT_l$  fueron hechas en 100 sujetos aparentemente sanos, donantes del Banco de Sangre del Hospital Obrero de Lima.

La actividad de la F.A. se determinó por el método de King-Armstrong (18). Cada suero se separó en dos porciones, una se mantuvo a temperatura ambiente y la otra se inactivó a 56°C por 30 minutos. En la primera porción se determinó la F.A. total ( $FAT_t$ ) y en la segunda la F.A. termoestable ( $FAT_c$ ) una vez enfriada (10 minutos a temperatura ambiente). La fracción termolábil ( $FAT_l$ ) se calculó por diferencia entre la  $FAT_t$  y la fracción termoestable.

Se ha usado la inactivación a 56°C por 30 minutos porque según las experiencias de Lyngbye (21) y Kitchener (19), la actividad fosfatásica decrece durante los primeros 20-25 minutos, permaneciendo sin cambio más allá de este tiempo.

**Tabla Nº 1. Valores normales de la fosfatasa alcalina total**

Unidades K. A.		Hombres	Mujeres
2.0	4.9	19	1
5.0	7.9	31	9
8.0	10.9	22	6
11.0	14.2	8	4
TOTAL		100	20
<b>Fosfatasa alcalina en hombres</b>			
<b>Media</b>	<b>Des. St.</b>	<b>Error St.</b>	<b>Coef. Var.</b>
5.6	2.2	0.24	37%
			<b>Val. Ext.</b>
			Mx. 12.7
			Mn. 2.1
<b>Fosfatasa alcalina en mujeres</b>			
8.1	1.03	0.39	12%
			<b>Val. Ext.</b>
			Mx. 14.2
			Mn. 4.9

La FAT<sub>t</sub> fue definida por Mc Master (22) como la cantidad de enzima sérica o tisular que permanece después de calentamiento a 56°C por 30 minutos.

### RESULTADOS

En hombres se encontró para la FAT<sub>t</sub> una media de  $5.6 \pm 2.2$  U.K.A., con cifras extremas de 2.1 y 12.7; la mayor frecuencia estuvo entre 5 y 10.9 (53 casos), Tabla 1. En mujeres la media fue de  $8.3 \pm 1.03$  U.K.A., con extremos de 4.9 y 14.2; como en el grupo masculino la mayor frecuencia se encontró entre 5 y 10.9 Unidades.

Para la fracción termoestable (Tabla

2) se obtuvo una media de  $0.92 \pm 0.41$  para hombres, con extremos de 0.071 y 3.8 U.K.A. La mayor frecuencia (74 casos) se encontró entre 0.0 y 1.9 Unidades. En mujeres la media fue  $0.75 \pm 0.17$  con extremos de 0.071 y 2.2 U. estando el mayor número de casos por debajo de 0.9 U.

La distribución de los promedios según edades en hombres y mujeres figura en las Tablas 4 y 5.

El promedio global encontrado en los 100 sujetos sanos entre los 18 y 50 años fue para la F.A. total  $7.4 \pm 2.45$ , con extremos de 2.2 y 14.2 U. y para la F.A. termoestable  $0.87 \pm 0.46$  con extremos de 0.071 y 3.8 U.K.A.

**Tabla Nº 2. Valores normales de la fosfatasa alcalina termoestable**

Unidades K.A.		Hombres	Mujeres
0.0	0.9	51	17
1.0	1.9	23	2
2.0	2.9	5	1
3.0	3.8	1	0
TOTAL		80	20

#### Fosfatasa alcalina termoestable en hombres

Media	Des. St.	Error St.	Coef. Var.	Val. Ext.
0.92	0.41	0.15	15%	Mx. 3.8 Mn. 0.071

#### Fosfatasa alcalina termoestable en mujeres

Media	Des. St.	Error St.	Coef. Var.	Val. Ext.
0.75	0.17	0.03	20%	Mx. 2.2 Mn. 0.071

## DISCUSION

El conocimiento de la fosfatasa alcalina termoestable (FAT<sub>t</sub>) se inicia cuando Bodansky (5, 6), Beck y Clark (1), Ebbs (15), Mc Master (22), Kitchener (19), Cursen (10) y Lyngbye (21), entre otros, demostraron que la F.A. del suero está elevada en el último trimestre del embarazo, alcanzando su máxima elevación al término del mismo y declinando lentamente durante las siguientes semanas. Inicialmente se pensó que tal aumento pudiera tener su origen en una actividad osteoblástica incrementada en la madre (22) o en el feto, con pasaje a la circulación materna (15). Beck y Clark (1), fueron los primeros en sugerir que

suero de recién nacido era inhibida, mientras que la F.A. intestinal, placentaria y la del suero de mujeres embarazadas eran resistentes a la inactivación. Kitchener (19), demostró la estabilidad de la F.A. placentaria al EDTA y Evered (16), al citrato en relación con otras fosfatasas.

b) *Pruebas de estabilidad térmica:* Landau y Schlamowith (20), demuestran que la F.A. intestinal es inhibida a 56°C. Moss y King (23), demuestran que la F.A. de hueso, hígado, intestino, riñón, útero, ovario, pulmón, páncreas, músculo, cerebro, corazón, bazo, próstata y testículo son inactivadas a 56°C por 30 minutos.

Estos mismos autores encuentran que la F.A. placentaria puede ser mantenida

**Tabla N° 3. Valores normales de la fosfatasa alcalina total según edad**

Edad	Media	D. S.	E. S.	C. V.	V. extremos	
18 — 20	7.4	1.9	0.51	25%	Mx.	11.4
					Mn.	5.6
21 — 30	7.0	2.6	0.36	36%	Mx.	12.7
					Mn.	2.2
31 — 40	6.7	2.3	0.52	34%	Mx.	9.8
					Mn.	2.2
41 — 50	8.5	3.03	0.88	35%	Mx.	14.2
					Mn.	2.4
18 — 50	7.4	2.45	0.56	32.5	Mx.	14.2
					Mn.	2.2

tal aumento fuese de origen placentario. Para aclarar la fuente de este aumento, la F.A. sérica y de varias fuentes fue sometida a diversas pruebas:

α) *Pruebas de inhibición química:* Beck y Clark (1), usando el taurocolato encuentran que la F.A. ósea, renal y del

a esta temperatura por cuatro semanas sin cambios apreciables y que su estabilidad persiste después del fraccionamiento con alcohol, desecación e infusión en recipientes humanos.

Neale (24), demuestra que ésta es la única fosfatasa alcalina no afectada por el calor a 56°C y que en presencia de

Mg su estabilidad se mantiene a 70°C por 30 minutos. Cuadro N° 8.

Posen (27), encuentra una ligera diferencia de estabilidad térmica entre la F.A. ósea y hepática (alrededor de la mitad de la enzima desaparece en 5 minutos en ambos casos), pero encuentra una F.A. más estable en bilis (alrededor de la mitad de la enzima desaparece en 20 minutos).

Kitchener (19), demuestra que aproximadamente la mitad de la enzima sérica circulante en el último trimestre del embarazo se comporta como F.A. placen-

tifica también la F.A. intestinal en el suero sanguíneo.

d) *Pruebas electroforéticas*: Boyer (4) demuestra por electroforesis en almidón, que la F.A. placentaria tiene la misma movilidad que la enzima que se encuentra en el suero de la mujer embarazada. Esto fue confirmado por Dymling (14) en agar y por Kitchener (19) en acetato de celulosa. La electroforesis revela dos picos, uno en el área de la  $\alpha_2$  globulina y otro entre la  $\alpha_3$  y beta. Después del calentamiento del suero la

**Tabla N° 4. Valores normales de la fosfatasa alcalina termoestable según edad**

Edad	Media	D. S.	E. S.	C. V.	V. extremos	
18 -- 20	0.81	0.35	0.09	43%	Mx.	1.7
					Mn.	0.071
21 — 30	0.81	0.59	0.08	72%	Mx.	2.2
					Mn.	0.071
31 — 40	0.77	0.25	0.05	32%	Mx.	2.3
					Mn.	0.071
41 — 50	1.10	0.68	0.20	61%	Mx.	3.8
					Mn.	0.35
18 — 50	0.87	0.46	0.10	52%	0.071 —	3.8

taria, mientras que la F.A. fetal y de mujer no embarazada son inactivadas.

c) *Pruebas de inactivación por anticuerpos*: Birket (2), demostró que la F.A. en el suero materno es parcialmente inactivada por un antisuero de conejo anti F.A. placentaria.

Schlamowith y Bodansky (28), usaron este método para demostrar que el 60% de la F.A. circulante en sujetos normales tenía origen óseo. El mismo Birket

electroforesis revela sólo un pico, cuya movilidad es la misma que la de la enzima placentaria.

Las técnicas electroforéticas, inmunológicas, de inhibición química e inactivación por el calor evidencian:

a) El origen placentario para el exceso de enzima que se encuentra en la circulación materna al final del embarazo.

b) Que la F.A. ósea es muy sensible al calor. Cuadro N° 7.

c) Que la F.A. placentaria es la única resistente a la inactivación a 56°C por 30 minutos.

d) Que la F.A. hepática e intestinal son algo más resistentes a la inactivación que la F.A. ósea; su velocidad de inactivación es menor. Cuadro N° 7.

e) Calentando el suero a 56°C por 30 minutos se puede medir el componente termoestable (enzima placentaria) en el suero de la mujer embarazada, especialmente en el último trimestre.

**Tabla N° 5. Contenido de F. A. en homogenados U.K.A./gramo según Mc Master**

Organo	F. A. total	F. A. termoestable
Placenta	19.5	19.5
Utero grávido	0.5	0.1
Utero no grávido	0.1	0.0
Ovario	0.1	0.0
Tej. mamario	1.0	0.3

**Tabla N° 6. Valores normales según varios autores**

Autor	Casos	Método	Hombres	Mujeres	Promedio
Mc Master	20 (10H)	K.A.	0.6 ± 0.5	0.7 ± 0.3	0.65 ± 0.25
Posen	35 (21H)	B.	Menos del 10%		
Lyngbye	7 (3H)	B.L.			0.0 - 0.2
Dávila	100 (80H)	K.A.	0.92 ± 0.41	0.75 ± 0.17	0.87 ± 0.46

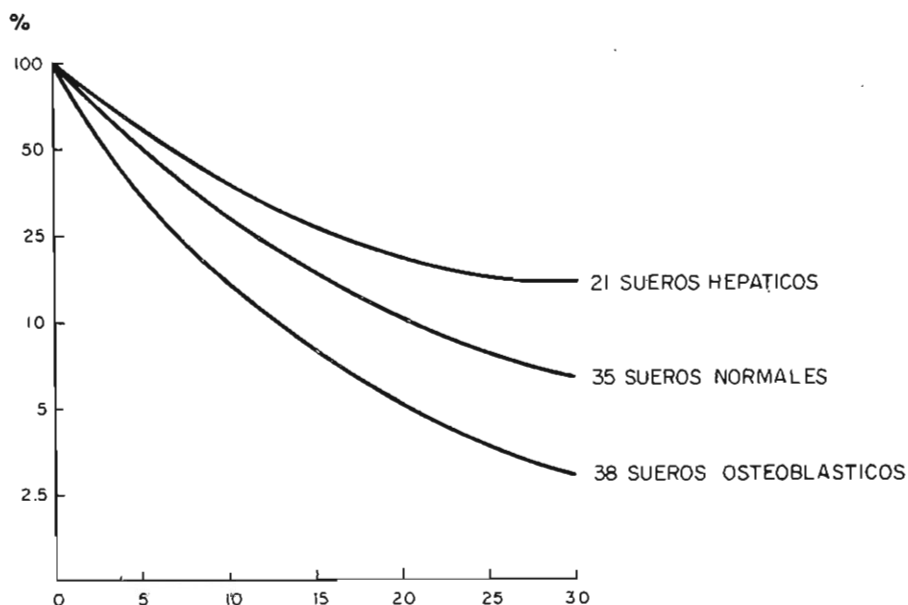


Fig. 1. Velocidad de inactivación de la fosfatasa alcalina.

Mc Master (22), Posen (27) y otros, demuestran que normalmente existe en el suero tanto de hombres como de mujeres un componente termoestable cuyo valor según Mc Master es de 0.6 % 0.5 U. K.A. en hombres y 0.7 % 0.3 en mujeres. (Cuadro N° 9). Mc Master concluye diciendo que la F.A. termoestable (FAT<sub>t</sub>) constituye aproximadamente un 10% de la F.A. total. Conclusión con la que están completamente de acuerdo Posen y Lyngbye. Tabla 7.

Nosotros encontramos que nuestro promedio de  $0.87 \pm 0.46$  U.K.A. para la fracción termoestable representa aproximadamente también un 10% del promedio de la F.A. total:  $7.4 \pm 2.45$ , coincidiendo, por tanto, también con Mc Master y Posen. Igualmente si tomamos en cuenta la equivalencia  $1$  U. Bodansky =  $2.5 - 3$  U.K.A. =  $0.56$  U.B.L. encontramos que los valores de Lyngbye son similares.

La F. A. del sujeto normal consiste de, por lo menos, 2 enzimas: una F.A. ósea derivada de los osteoblastos y otra F.A. no ósea, probablemente derivada del tracto hepatobiliar. En niños en crecimiento y en pacientes con desórdenes del sistema esquelético existe más enzima ósea circulando cuya velocidad de inactivación es muy rápida, mientras que en procesos hepatobiliares predomina la F.A. de origen hepático o biliar, que son algo más resistentes a la inactivación, la segunda más que la primera. Normalmente el suero sanguíneo contiene del 40-60% de F.A. ósea y el resto sería hepática o biliar. Los valores de F.A. termoestable ocuparían, según Posen, una situación intermedia entre la F.A. de sujetos con actividad osteoblástica y aquella de

enfermos hepatobiliares. Fig. 1. La razón por la que una fosfatasa es particularmente más resistente que otra es oscura, se ha sugerido que la resistencia al calor estaría vinculada a su contenido proteico.

#### LITERATURA CITADA

1. Beck, E. y Clark, L. C.: 1950. Plasma alkaline phosphatase. *Am. J. Obst. Gynaec.* **60**: 731-740.
2. Birkett, D. J.; Done, J.; Neale, F. C. y Posen, S. 1966. Serum alkaline phosphatase in pregnancy: An immunological study. *Brit. Med. J.* **1**: 1210-1212.
3. Boyer, S. H.: 1961. Alkaline phosphatase in human sera and placentae. *Science*, neg. 1002-1004.
4. ———: 1963. Human organ alkaline phosphatase: discrimination by several means including starch gel electrophoresis and antyenzyme-enzyme supernatant fluid. *Ann. N. Y. Acad. Sc.* **103**: 939-950.
5. Bodansky, M.: 1939. Changes in serum-calcium, inorganic phosphate and phosphatase activity in the pregnant woman. *Am. J. Clin. Path.* **9**: 36-51.
6. Bodansky, O.: 1937. Are the phosphatase of bone, kidney, intestine and serum identical? The use of bile acids in their differentiation. *J. Biol. Chem.* **118**: 341-348.
7. Burke, O. J.: 1950. Serum alkaline phosphatase in liver disease. A concept of its significance. *Gastroenterology*, **16**: 660-668.
8. Cloetens, R.: 1939. *Enzimología*, **6**: 46 (Cit. por Neale).
9. Cursen, P.: 1964. Variations in the enzyme histochemistry of the placenta. *J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth.* **71**: 388-399.
10. Cursen, P. y Morris, I.: 1965. Serum alkaline phosphatase in the hypertensi-

- ve disorders of pregnancy. *J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth.* 72: 397-401.
11. Chabás, J. L.: 1969. *Enziimología*. Ed. Científico Médica.
  12. Chiandussi, L.; Greene, S. F. y Sherlock, S.: 1962. Serum alkaline phosphatase fractions in hepato-biliary and bone disease. *Clin. Sci.* 22: 425-434.
  13. Dávila, E.: Fosfatasa alcalina termoestable en hepatopatías. (En prensa).
  14. Dymling, J. F.: Scand. 1966. *J. Clin. Lab. Invest.* 18: 129. (Citado por Lynbye).
  15. Ebbs, J. H. y Scott, W. A.: 1965. Blood phosphatase in the hypertensive disorders of pregnancy. *J. Obstet. Gynec. Brit. Cwlth.* 72: 397-401.
  16. Evered, D. C. y Stenenson, T. I.: 1964. Citrate inhibition of alkaline phosphatase. *Nature. Londres.* 202: 491-492.
  17. Haije W. G. y De Jong, M.: 1963. Isoenzyme patterns of serum alkaline phosphatase in agar-gel electrophoresis and their clinical significance. *Clin. Chim. Acta.* 8: 620-624.
  18. King, E. J. y Armstrong, A. R.: 1934. Convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. *Canad. Med. Ass. J.* 31: 376-382.
  19. Kitchener, P. N.; Neale, F. C.; Posen, S. y Brudenell, W. J.: 1965. Alkaline phosphatase in maternal and fetal sera at term and during the puerperium. *Am. J. Clin. Path.* 44: 654-661.
  20. Landau, W. y Schlamowith, M.: 1961. Studies of factors related to the differentiation of alkaline phosphatases derived from several tissues. *Arch. Biophys. Biochem.* 95: 474-478.
  21. Lynbye, J. y Christoffersen, J. B.: 1968. Termoestable serum alkaline phosphatase in normal and pathological pregnancy. *Danish Medical Bulletin.* 15: 13-18.
  22. Mc Master, Y.; Tennant, R.; Clubb, J. S.; Neale, F. C. y Posen, S.: 1964. The mechanism of the elevation of serum alkaline phosphatase in pregnancy. *J. Obst. Gynaec. Brit. Cwlth.* 71: 735-739.
  23. Moss, D. W. y King, E. F.: 1962. Properties of alkaline phosphatase fractions separated by starch-gel electrophoresis. *Biochem. J.* 84: 192-197.
  24. Neale, F.; Clubb, J. S.; Hotchkis y Posen, S.: 1965. Heat stability of human placental alkaline phosphatase. *J. Clin. Path.* 18: 359-363.
  25. Picok, A. C.; Reed, R. A. y Highsmith, E. M.: 1963. Ethanol fractionation of human serum alkaline phosphatase. *Clin. Chim. Acta.* 8: 914-920.
  26. Polin, S. G.; Spellberg, M. A.; Teitelman, L. y Okumara, M.: 1962. The origin of elevation of serum alkaline phosphatase in hepatic disease. *Gastroenterology.* 42: 431-438.
  27. Posen, S.; Neale, F. y Clubb, J.: 1965. Heat inactivation in the study of human alkaline phosphatase. *Ann. of Internal Med.* 62: 1234-1243.
  28. Schlamowith, M. y Bodansky, O.: 1959. Tissue sources of human serum alkaline phosphatase as determined by immunochemical procedures. *J. Biol. Chem.* 234: 1433-1437.