

Az alacsony alkalikusfoszfátáz-aktivitás klinikai értékelése és differenciáldiagnosztikája

Fodor Anna dr. ■ Kenesei Éva dr. ■ Szabó J. Attila dr.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, I. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest

A laboratóriumi vizsgálatoknak kiemelten fontos szerepe van számos betegség esetében a diagnózis meghatározásában. A mérési eredményeket a laboratóriumok által megadott normálértékekhez hasonlítjuk. Néhány esetben ezek a nemtől és a kortól is függenek. Az alkalikus foszfátáz esetében ritkán vesszük figyelembe, hogy bizonyos életszakaszokban eltérő referenciaértékekkel kell számolnunk a két nemben. A napi gyakorlat során gyakran az életkorral összefüggő változásokat sem vesszük figyelembe. Különösen igaz ez akkor, ha a laboratórium nem ad meg életkori normálértékeket. Egy másik probléma lehet, hogy az alkalikus foszfátáz esetében a normálértékeket meghaladó, magasabb eredményekre fókuszálunk, és nem tulajdonítunk hasonló fontosságot a referenciahatár alá eső értékeknek. Természetesen soha nem egy-egy laboratóriumi paramétert, hanem a beteg panaszait, a fizikális vizsgálat során látott képet és az egyéb diagnosztikai eredményeket kell értékelnünk a pontos diagnózis felállításához. A következőkben szeretnénk felhívni a figyelmet egy gyakran mért laboratóriumi paraméter, az alkalikus foszfátáz szerepére egyes betegségek diagnosztikájában, különös tekintettel az életkori normálértékek alatt mért esetekben. *Orv Hetil.* 2017; 158(26): 1003–1007.

Kulcsszavak: alkalikus foszfátáz, hypophosphatasia

Differential diagnosis of the low alkaline phosphatase activities

Laboratory diagnostics is especially important in the diagnosis of certain diseases. We compared manual measurements results to laboratory normal values. In some cases, these values depend on the gender and age as well. In the case of alkaline phosphatase, it is rarely considered that reference values change over life periods. Unfortunately, during the daily practice we do not always take into account of the changes with aging. This is especially true if the laboratory does not specify the age related normal values. Another problem that we mostly focus on the results exceeding the normal values, and do not pay enough attention to the low values. Of course, these results should be put in the context of the clinical picture and other diagnostic test results. We would like to draw attention to the measuring of alkaline phosphatase and the differential diagnosis for low serum activity.

Keywords: alkaline phosphatase, hypophosphataemia

Fodor A, Kenesei É, Szabó JA. [Differential diagnosis of the low alkaline phosphatase activities]. *Orv Hetil.* 2017; 158(26): 1003–1007.

(Beérkezett: 2017. április 13.; elfogadva: 2017. május 10.)

Rövidítések

ALP = alkalikus foszfátáz; Ca²⁺ = kalciumion; EDTA = etiléndiamin-tetraecetsav; GABA = gamma-aminovajsav; H₂O = víz; IFCC = International Federation of Clinical Chemistry; IU = nemzetközi egység; K = kálium; Mg²⁺ = magnéziumion; PEA = foszfoetanol-amin; PLP = piridoxál-5'-foszfát; PPi = szervesetlen pirofoszfát; PTH = parathormon; Se = szérum; TNAP = tissue non-specific alkaline phosphatase; Zn²⁺ = cinkion

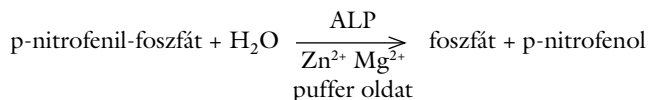
Az alkalikus foszfátáz (ALP) egy glikoprotein, amely funkcióját tekintve a foszfomonoészter molekulák hidrolízisét végzi, tehát egy foszfomonoészteráz. Extracellulárisan helyezkedik el és egy glikozil-foszfátidil-inozitol karral kapcsolódik a sejtmembrán külső részéhez. Ezt a membránköttöt alakot a foszfolipáz C és D alakítják szolúbilis formává. Rendkívül konzervatív fehérje, a baktéri-

umoktól az emlősökig megtalálható [1]. *Négy izoenzimformát* különítünk el, amelyek számos szervben megtalálhatóak: intestinalis, placenta, csírasejt típusú, valamint a nem szövetspecifikus (csont-máj-vese; tissue non-specific alkaline phosphatase – TNAP) forma. A humán szérumban legnagyobb mennyiségben ez utóbbi izoenzimformának az aktivitását mérjük; mivel ez máj-, csont- és veseeredetű (a veseeredetű enzim a vizeletben mutatható ki), a relatív megoszlást jelentősen befolyásolja az életkor és a nem. Az enzim génje (*ALPL gén*) az 1p36-p34 locuson található, s a csontban, a májban és a vesében megtalálható formái posztranszlációs módosulások révén különböznek egymástól [2]. Ez a különbség például eltérő hőstabilitást eredményez, amely befolyásolja az enzim optimális működését. A TNAP izoenzimet a fent említett szerveken kívül főemlősökben kimutatták az agyban is [3], például az endothelsejteken, és szerepet tulajdonítottak neki a vér–agy gát működésében, valamint a szenzoros cortex neurotransmissziójában is. Az enzim optimális működéséhez alkalikus pH-ra, cink- és magnéziumionokra van szükség [4]. Az ALP szubsztrátja a *szervetlen pirofoszfát (PPi)*, amelyből a csontok és a fogak mineralizációjához szükséges szervetlen foszfát képződik, a *foszfoetanol-amin (PEA)* és a *piridoxál-5'-foszfát (PLP)*, amely a B₆-vitamin aktív formája. Az enzim az extracelluláris PLP-t piridoxállá alakítja, amelyet a sejtek fel tudnak venni és intracelluláris refoszforiláció után számos enzim kofaktoraként működik, például neuronokban GABA vagy a szerotonin neurotranszmitterek szintézisében és a purinerg jelátvitelben [5].

Az ALP-aktivitás laboratóriumi meghatározása

Az ALP esetében az enzim aktivitását mérjük. Az enzimaktivitást nemzetközi egységben (IU) határozzuk meg. Egy IU az az enzimmennyiség, amely 1 µmol szubsztrát átalakítását egy perc alatt katalizálja standard körülmények között. Az aktivitást egységnyi szérumtérfogatra vonatkoztatjuk: IU/L. A referenciaértéket nagyban befolyásolja a laboratóriumi módszer, amellyel meghatározzuk [6]. Ennek következtében az egyes laboratóriumok mérési eredményeit nehezen tudjuk összehasonlítani. Így törekednünk kell arra, hogy minden egyes laboratórium a saját módszerének és reagenseinek megfelelően a korra és nemre specifikus referenciatartományát kialakítsa. A legtöbb laboratórium kolorimetriás módszerrel határozza meg a szérumban vagy heparinos plazmában az ALP aktivitását [7]. Magnézium- és cinkionok jelenlétében az ALP hatására a p-nitrofenil-foszfát p-nitrofenollá hidrolizálódik, amelynek mennyisége fotometriásan mérhető és mennyisége egyenesen arányos az ALP-aktivitással. Az alkalikus pH-t pufferoldattal szükséges biztosítani, ez a legtöbb reagensben 2-amino-2-metil-1-propanol vagy dietanol-amin-puffer; utóbbit használva magasabb értékek mérhetőek ugyanabból a

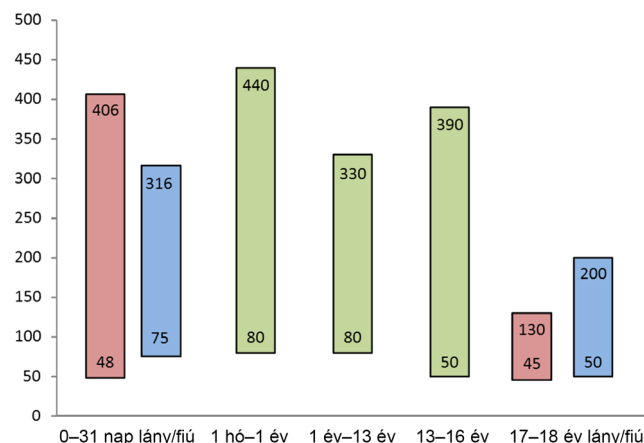
mintából [8]. Klinikánkon az 1983-ban a Nemzetközi Klinikai Kémiai Társaság (International Federation of Clinical Chemistry – IFCC [9]) által meghatározott standardizált eljárást használjuk, amely optimalizált szubsztrátkoncentrációt, pufferként 2-amino-2-metil-1-propanolt, valamint magnézium- és cinkkationokat alkalmaz. Mivel a reakcióhoz elengedhetetlen a magnézium jelenléte, EDTA-s (vérképes cső), illetve citrátos (hemosztázisos cső) plazmából nem szabad meghatározni az alkalikus foszfatáz aktivitását.



Nem és korszpecifitás

Mivel az ALP (csontspecifikus izoforma) az osteoblast-aktivitás egyik markere, így egészséges esetben a növekedésben levő gyermekekben a legmagasabb az aktivitása. Egy 2003–2006 között elvégzett isztambuli tanulmány szerint [8] az élet első hat hónapjában a legmagasabb a szérum-ALP-aktivitás, majd csökkenésnek indul és körülbelül nyolc–kilenc éves korban kezd el ismét növekedni, amely lányoknál 12, fiúknál 14 év körül éri el a csúcst, majd eztán újra csökken. A felnőttkori aktivitási szintet a lányok 17–18, a fiúk 20 éves korukra érik el. Nemi különbséget leginkább 10 éves kor után lehet detektálni, amelyben a pubertás eltéréseinek és az ekkori gyors növekedésnek lehet szerepe. Az általunk meghatározott és használt referenciatartományok az 1. ábrán láthatóak.

A mindennapi diagnosztikában ALP-érték-meghatározást leginkább azért végzünk, hogy a magas szintjét detektáljuk (például hepatobiliaris megbetegedések vagy



1. ábra Szérum ALP-aktivitás (IU/L) kor- és nemfüggő referenciatartománya (IFCC)

Készült: DE Laboratóriumi Medicina Intézet és SE I. Gyermek-klinika saját adatainak irodalmi adatokkal való összefűzéséből (Soldin SJ. Pediatric reference ranges. CALIPER, 2013)

1. táblázat | Az alacsony szérumszintű ALP-ok okai [10]

Hypophosphatasia (HPP)	Myeloma multiplex
• csecsemőkori OMIM 241500	Klófibrátterápia
• kisdedkori OMIM 241510	Cushing-szindróma
• felnőttkori OMIM 146300	Tejalkáli-szindróma
Éhezés, malnutritio	Szívbypassműtét
Zn ²⁺ - vagy Mg ²⁺ -hiány	Masszív transfúzió
Coeliakia	Laboratóriumi hiba:
C-vitamin-deficiencia	• nem megfelelő referenciaérték
D-vitamin-intoxikáció	• rossz mintavétel (például EDTA, citrát)
Hypothyreosis, hypoparathyreosis	Radioaktív fémkontamináció
Osteogenesis imperfecta II-es típus	Cleidocranial dysplasia (OMIM 166210)
Anaemia perniciosa	Mseleni joint disease (OMIM 613342)
Wilson-kór	

fokozott osteoblast-aktivitással járó csontbetegségek fennállásakor). Például epeút-elzáródás esetén a normális körülmények között a májsejtek membránján található ALP epébe kerülése gátlódik, így nagyobb mennyiség-

ben kerül a vérbe. A referenciatartomány alatti értékre kevésbé figyelünk, pedig ez is lehet kórjelző és számos esetben a diagnózis felállítását is megkönnyíti. Ezeket a kórállapotokat mutatja be az 1. táblázat [10].

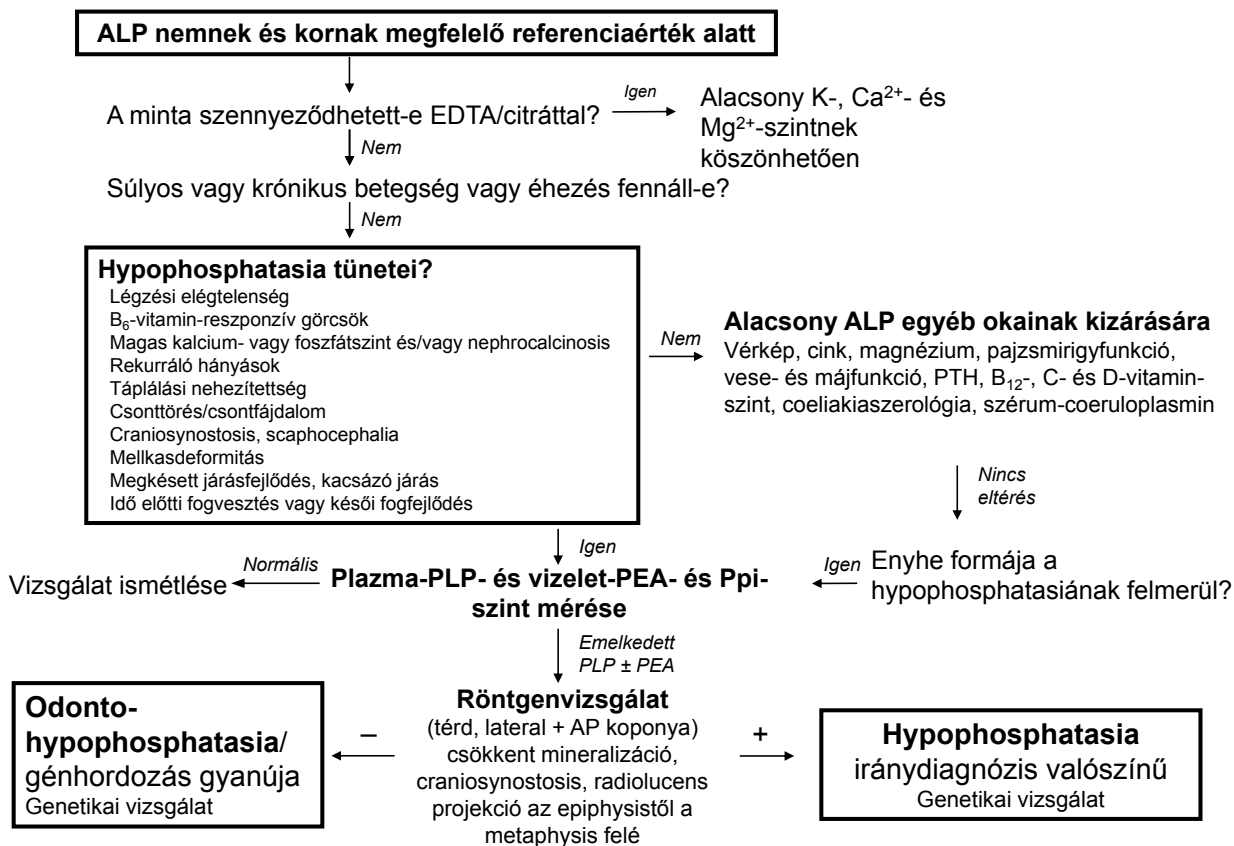
Alacsony ALP-értékek hátterében álló kórállapotok

Malnutritio esetében egyrészt a fehérjehiány következtében, másrészt az egyéb ásványi anyagok (Zn²⁺, Mg²⁺) hiánya miatt detektálhatunk alacsony ALP-aktivitást, erre példa a kwashiorkor [11].

Bármely olyan kórállapot, amely *csökkent csontanyag-cserét* eredményez, alacsony ALP-aktivitást okoz [12]: hypothyreosis, hypoparathyreosis, szteroidterápia. A *magas D-vitamin-szint* gátolja az osteogenesis, az osteoblastok aktivitását és csökkenti a csontképzést [13], így szintén a referenciaérték alatti mérési eredményekhez vezethet.

Anaemia perniciosa esetén a kobalamin- (B₁₂-vitamin-) hiányt teszik felelőssé, hiszen az osteoblastok működése kobalaminfüggő [14].

Wilson-kór fennállása során az alacsony ALP-aktivitást a magas rézkoncentrációval magyarázzák, amely a cink enzimaktiváló hatását befolyásolhatja [15].



2. ábra | A hypophosphatasia diagnosztikus algoritmusára Saraff [12] alapján
 PLP = piridoxál-5'-foszfát, PEA = foszfoetanol-amin, PPi = szervetlen pirofoszfát

Szívműtétet követően szintén leírtak alacsony ALP-értéket, amelyet a hypomagnesaemiával (a cardiopulmonalis pumpa által történt kimosásnak tudtak be) és alacsony fehérjebevitellel magyaráztak [16].

Az alacsony ALP-értéket okozó betegségek közül a *hypophosphatasia* egy ritka genetikai betegség, Európában a prevalanciája 1:300 000 körüli. Ennek felismerése és diagnosztizálása azért nagyon fontos, mert enzimszubsztitúciós (asfotase alfa) terápiával az utóbbi időben gyógyíthatóvá vált [17–19]. Ebben az esetben az ALPL gén inaktíváló mutációja következtében alacsony ALP-aktivitás és a szubsztrátok a szérumban (PPi, PLP), valamint a vizeletben a PEA felhalmozódása figyelhető meg. A PPi gátolja a mineralizációt, ennek következtében rachitis, osteomalacia, csonttörések alakulnak ki [12]. Az intracelluláris piridoxáhiány következtében B₆-vitamindependens epilepszia alakul ki a GABA szintézisének zavara miatt. A tünetek súlyossága és megjelenésének ideje alapján hat formát különíthetünk el: perinatalisan letális, perinatalis benignus, infantilis, gyermekkori, felnőttkori és odontohypophosphatasia, amely csak a fogakat érinti. A perinatalis forma annyira súlyos, hogy legtöbbször intrauterin halálhoz vezet. A praenatalisan észlelt, benignus forma jelei is intrauterin megjelennek, azonban nem letálisak [17]. Az infantilis forma az élet első hat hónapjában jelentkezik, gyakran légzési elégtelenséggel jár a légzési segédizmok elégtelen működése és a csontfejlődési zavarok miatt. A gyermekkori megjelenési forma az első két életévben jelentkezik, tünetei enyhébbek, végtagdeformitással és a tejfogak idő előtti elvesztésével járhat. Alacsony ALP-aktivitás esetében érdemes ezért az anamnestikus adatok között a fogváltás idejére, esetlegesen hamar elvesztett tejfogakra is rákérdezni. A felnőttkori forma gyakran középkorúaknál manifesztálódik osteomalacia, krónikus fájdalom, visszatérő metatarsalis törések képében [17]. Diagnosztizálásában a súlyosabb formáknál már intrauterin észlelhetőek ultrahangeltérések, amelyek felvetik a betegség gyanúját. Az enyhébb formáknál az alacsony ALP-aktivitás lehet az első figyelemfelhívó jel, amely után a tüneteket specifikusabban kereshetjük (2. ábra). A plazma PLP-szintjének mérése szenzitív vizsgálat, de figyelembe kell venni, hogy a B₆-vitámin szájon át történő pótlása befolyásolhatja az eredményeket [20].

Bár a súlyos perinatalis és infantilis forma ritka, de a fent leírt tünetek esetében keresni kell a háttérben álló kórokat, amiben az ALP mérése segíthet. A későbbi életkorban jelentkező formák esetében a leírt tünetek, különösen a korai tejfogvesztés vagy fogelváltozás esetén gondoljunk a hypophosphatasia-ra is. Ilyen esetben az ALP mérése segíthet a diagnózis felállításában, bár a betegség pontos kórisméjét a plazma PLP- és a vizelet PEA-szintjének mérése, illetve genetikai vizsgálat eredménye adhatja meg. Ez utóbbi méréseket speciális laboratóriumban lehet elvégezni. A gyors és pontos diagnó-

zis pedig, különösen a súlyosabb kórfarmák esetében, segíthet a már elérhető, betegségspecifikus terápia elindításában.

Következtetés

Az alkalikus foszfatáz (ALP) mérése a mindennapi orvosi gyakorlat része. Fontos tudnunk, hogy mérési eredményeinket csak a mérést végző laboratórium referenciaértékeihez hasonlítva értékelhetjük. A laborspecifikusság mellett figyelembe kell vennünk az enzimnek a korról és nemmel történő változását is. Különösen igaz ez csecsemő- és serdülőkorban, amikor a felnőttkori értékeket akár jelentősen meghaladó eredmények sem jeleznek kóros eltérést, csak a normális növekedés és csontfejlődés jelei. Az alacsony ALP-értékek háttérben számos kórfolyamat, hiányállapot állhat, ezért a referenciaértékek alatti mérések esetében fontos az anamnézis részletes felvétele és a gyermek ennek megfelelő kivizsgálása. Az alacsony ALP-értékkel járó esetekben gondoljunk a hypophosphatasia fennállásának lehetőségére is, hiszen mind a specifikus diagnosztikája, mind a betegség terápia elérhetővé vált.

Anyagi támogatás: A közlemény megírása anyagi támogatásban nem részesült.

Szerzői munkamegosztás: F. A.: A közlemény megírása. Sz. J. A.: Lektorálás. K. É.: A laboratóriumi referenciaértékek szolgáltatása. A cikk végleges változatát mindhárom szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Irodalom

- [1] Dziedziczko V, Safranow K, Slowik-Zylka D, et al. Comparison of rat and human alkaline phosphatase isoenzymes and isoforms using HPLC and electrophoresis. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1752: 26–33.
- [2] Fishman WH. Alkaline phosphatase isozymes: recent progress. *Clin Biochem*. 1990; 23: 99–104.
- [3] Fonta C, Negyessy L, Renaud L, et al. Areal and subcellular localization of the ubiquitous alkaline phosphatase in the primate cerebral cortex: evidence for a role in neurotransmission. *Cereb Cortex* 2004; 14: 595–609.
- [4] Coleman JE. Structure and mechanism of alkaline phosphatase. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*. 1992; 21: 441–483.
- [5] Sebastian-Serrano A, de Diego-Garcia L, Martinez-Frailes C, et al. Tissue-nonspecific alkaline phosphatase regulates purinergic transmission in the central nervous system during development and disease. *Comput Struct Biotechnol J*. 2015; 13: 95–100.
- [6] Vroon DH, Israili Z. Alkaline phosphatase and gamma glutamyltransferase. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW. (eds.) *Clinical methods: The history, physical, and laboratory examinations*. Butterworth Publishers, Boston, 1990.

- [7] Neumann H, van Vreedendaal M. An improved alkaline phosphatase determination with p-nitrophenyl phosphate. *Clin Chim Acta* 1967; 17: 183–187.
- [8] Turan S, Topcu B, Gokce I, et al. Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z-scores in different types of rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2011; 3: 7–11.
- [9] Schumann G, Klauke R, Canalias F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. Part 9: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) Scientific Division, Committee on Reference Systems of Enzymes (C-RSE). *Clin Chem Lab Med.* 2011; 49: 1439–1446.
- [10] McKiernan FE, Shrestha LK, Berg RL, et al. Acute hypophosphatasemia. *Osteoporos Int.* 2014; 25: 519–523.
- [11] Schwartz R. Alkaline phosphatase activity of the serum in kwashiorkor. *J Clin Pathol.* 1956; 9: 333–340.
- [12] Saraff V, Narayanan VK, Lawson AJ, et al. A diagnostic algorithm for children with low alkaline phosphatase activities: lessons learned from laboratory screening for hypophosphatasia. *J Pediatr.* 2016; 172: 181–186.e1.
- [13] Sun J, Sun B, Wang W, et al. Histochemical examination of the effects of high-dose 1,25(OH)₂D₃ on bone remodeling in young growing rats. *J Mol Histol.* 2016; 47: 389–399.
- [14] Van D, Klaassen CH. Cyanocobalamin-dependent depression of the serum alkaline phosphatase level in patients with pernicious anemia. *N Engl J Med.* 1964; 271: 541–544.
- [15] Shaver WA, Bhatt H, Combes B. Low serum alkaline phosphatase activity in Wilson's disease. *Hepatology* 1986; 6: 859–863.
- [16] Lum G, Marquardt C, Khuri SF. Hypomagnesemia and low alkaline phosphatase activity in patients' serum after cardiac surgery. *Clin Chem.* 1989, 35: 664–667.
- [17] Orimo H. Pathophysiology of hypophosphatasia and the potential role of asfotase alfa. *Ther Clin Risk Manag.* 2016; 12: 777–786.
- [18] Whyte MP, Kurtzberg J, McAlister WH, et al. Marrow cell transplantation for infantile hypophosphatasia. *J Bone Miner Res.* 2003; 18: 624–636.
- [19] Whyte MP, Greenberg CR, Salman NJ, et al. Enzyme-replacement therapy in life-threatening hypophosphatasia. *N Engl J Med.* 2012; 366: 904–913.
- [20] Orimo H. The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease. *J Nippon Med Sch.* 2010; 77: 4–12.

(Fodor Anna dr.,

Budapest, Bókay János u. 53–54., 1083

e-mail: fodor.anna@med.semmelweis-univ.hu)

HIRDET MÉNY

A Magyar Pathologusok Társasága és a Magyar Onkológusok Társasága

a 2017. évi KROMPECHER ÖDÖN-pályamunka

díjazására 150 000 Ft (százötvenezer Ft) pályadíjat tűz ki
orvostanhallgatók és fogorvostan-hallgatók számára.

A pályamunka címe: „**A colorectalis daganatok kialakulásában szereplő molekuláris mechanizmusok és ezek klinikai jelentősége**”

A pályamunka **terjedelme** az irodalommal és a dokumentációval együtt **maximum 80 oldal lehet**.

A munkán csak a **jelige** szerepelhet, melyhez mellékelni kell egy borítékot, rajta a jeligével.

A nevet, az évfolyamot, a pontos laccímet, a telefonszámot és az e-mail címet lezárt borítékban kell megadni.

A pályamunka beadási határideje: 2017. november 30.

Helye: Semmelweis Egyetem II. sz. Patológiai Intézet – 1091 Budapest, Üllői út 93.

Díjazást elért pályázat esetén a Társaságok javaslatot tesznek a pályamunka **szakdolgozat**ként való elfogadására.

Budapest, 2017. május 6.

Magyar Pathologusok Társasága
és
Magyar Onkológusok Társasága
vezetősége