

Alkalická fosfatáza

Alkalická fosfatáza (ALP) je metaloproteinový enzym katalyzující hydrolýzu monoesterů kyseliny fosforečné v alkalickém prostředí (v optimu pH 9,5–10,5) na kyselinu fosforečnou a alkohol. Ovlivňuje metabolismus makroergických fosfátových vazeb a napomáhá transportu anorganických fosfátů přes buněčnou membránu.

Referenční hodnoty v séru ^[1]:

Pacient	Věk	Referenční hodnoty
děti	<6 týdnů	1,2–6,3 µkat/l
	(6 týdnů–2 roky)	1,44–8,0 µkat/l
	(2–11 let)	1,12–6,2 µkat/l
	(11–15 let)	1,35–7,5 µkat/l
ženy	–	0,7–2,1 µkat/l
muži	–	0,9–2,2 µkat/l

Výskyt ALP

Alkalická fosfatáza se vyskytuje výhradně v cytoplazmatických membránách – v epitelu vývodových cest žlučových, v játrech, kostech, střevech, placentě, srdci, ledvinách a v plicích.

Zvýšené hodnoty

Zvýšené hodnoty ALP se vyskytují u:

- intra- i extrahepatální cholestázy,
- reparačních procesů kostí (díky zvýšené činnosti osteoblastů),
- zlomenin,
- metastáz v kostech,
- Pagetovy choroby,
- osteomalacie,
- virové hepatitidy (při malém zvýšení oproti hodnotám AST a ALT),
- nádorových onemocnění jater (při velkém zvýšení oproti hodnotám AST a ALT),
- bakteriálních infekcí,
- střevních onemocněních,
- selhání ledvin,
- biliární cirhózy,
- hyperparatyreózy,
- a při růstu kostí u dětí (dle aktivity osteoblastů).



ALP

Snížené hodnoty

Nacházíme ve vzácných případech a to u:

- intoxikace vitamínem D,
- léčby antiepileptiky nebo hypolipemiky,
- a hereditární hypofostatemie.

Izoenzymy ALP

Alkalická fosfatáza tvoří více než 17 izoenzymů, klinicky nejdůležitější jsou 4 z nich. Tři tkáňově specifické izoenzymy: **střevní**, **placentární** a placentárnímu podobný – **Reganův placentární izoenzym**, který vzniká při specifickém nádorovém bujení a od placentárního je těžko rozeznatelný. Dále jeden tkáňově nespecifický, který zahrnuje 3 izoformy: jaterní, kostní a ledvinovou.

U dětí převažuje izoenzym kostní (až 85 % z celkové ALP), u těhotných žen zase převládá izoenzym placentární (až 50 % z celkové ALP).

Stanovení celkové ALP

Vyšetření se provádí z nehemolytického séra nebo plazmy. Materiál se odebírá do skleněných nebo plastových zkumavek s obsahem antikoagulačního činidla (Li-heparin) a musí být zpracován do 4 hodin od odběru. Vyšetření se nesmí provádět z hemolytického séra, protože z erytrocytů by se uvolnily fosfomonoesterázy, což by způsobilo falešně pozitivní výsledek. Stanovení vadí také opětovné zamrazení a ohřátí vzorku. Při stanovení se nesmí vzorek setkat s EDTA, oxaláty a citráty, které tvoří cheláty a inhibují aktivitu ALP tím, že vyváží zinečnatý kationt z jejího aktivního centra.

Standardizovaná metoda

Měření aktivity ALP se provádí při 37 °C v TRIS pufru (tris-hydroxymethyl-aminomethan) s aktivátorem při pH 10,4. Principem reakce je katalýza štěpení 4-nitrofenylfosfátu na 4-nitrofenol a fosforečnan, kdy sledujeme nárůst absorpance na spektrofotometru při 405 nm, která je přímo úměrná příbytku množství 4-nitrofenolu a tudíž přímo úměrná aktivitě ALP.

Stanovení izoenzymů ALP

Stanovení se provádí z nehemolytického séra, materiál se odebírá nalačno. Ihned po odběru se vzorek musí transportovat do laboratoře, kde je až do zpracování (maximálně jeden týden) uložen v chladničce.

ELFO

Využívá rozdělení jednotlivých izoenzymů na základě různých pohyblivostí. Následně se provede denzitometrická kvantifikace.

anoda ← (nejrychlejší) jaterní > placentární > kostní > střevní (nejpomalejší) → katoda

Normální hodnoty izoenzymů

kostní – 60–70 %;
jaterní – 30–50 %;
střevní < 20 %.

Inaktivace teplem

Směs se na 10 minut zahřeje na 56 °C, tím dojde k úplné inaktivaci kostního izoenzymu. Ve směsi zůstane izoenzym jaterní, který se při teplotě nad 56 °C rozpadá. Zato placentární izoenzym je velice termostabilní, vydrží teploty až k 65 °C. Tímto způsobem můžeme při různých teplotách změřit aktivitu různých izoenzymů.

Inhibiční metody

Zde je využíváno různých inhibičních roztoků, např: Použitím α -fenylalaninu je možné inhibovat zcela izoenzym střevní a polovinu izoenzymu placentárního. Močovina zcela inhibuje izoenzym kostní, z 30 % izoenzym střevní a placentární a z 50 % izoenzym jaterní. Pomocí homoargininu se zase inaktivují izoenzymy kostní a jaterní.

Odkazy

Použitá literatura

- Ústav klinické biochemie a patobiochemie Univerzita Karlova, 2. lékařská fakulta a Fakultní nemocnice v Motole. . *Laboratorní příručka, verze: VLP_8ÚKBP_1/2009_1*. 1. vydání. 2010. ISBN 978-80-7262-660-1.
- RACEK, J, et al. *Klinická biochemie*. První vydání. Praha : Galén – Karolinum, 0000. 0 s. ISBN 80-7262-023-1.

Reference

1. RACEK, J, et al. *Klinická biochemie*. První vydání. Praha : Galén – Karolinum, 0000. 0 s. ISBN 80-7262-023-1.