



ALKALEN FOSFATAZ İZOENZİM ELEKTROFOREZİ

Kısaltma: ALP izoenzimleri, AP izoenzimleri.

Kullanım amacı: Klinik uygulamada, total alkalen fosfataz aktivitesinin yüksek bulunduğu durumlarda, aktivite yüksekliğine neden olan kaynağın belirlenmesi amacıyla kullanılır.

Genel bilgiler:

- Alkalen fosfataz, “fosforik monoester hidrolazlar” olarak adlandırılan bir grup enzim içinde yer alır. Alkali pH’da bir fosfat grubunun verici bir molekülden hidrolizini ve alıcı bir moleküle transferrini sağlar. Alkalen fosfataz hücre membranlarına bağlı olarak bulunan bir enzimdir ve hemen hemen bütün hücrelerde bulunur. Alkalen fosfataz ile ilgili genel ve klinik bilgiler için Bk. ALKALEN FOSFATAZ.
- Normal koşullarda plazmada bulunan alkalen fosfataz enziminin en önemli kısmı karaciğer ve kemik kaynaklı olduğu halde, bazı durumlarda, bağırsak, böbrek ve plasenta kaynaklı enzimlerin de total plazma aktivitesine katkıda bulunması mümkündür.
- Isı denatürasyonu alkalen fosfataz izoenzimlerinin oranlarının tahmin edilmesi ve total aktivitedeki artışın kaynağının belirlenmesi amacıyla çok eski yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu metotta önce herhangi bir işlem uygulanmadan önce total aktivite ölçülür, ardından serum numunesi 56°C’de 10 dakika ve 65 °C’de 5 dakika inkübe edildikten sonra alkalen fosfataz aktivite ölçümleri tekrarlanır. Bu metodun sağlıklı sonuç verebilmesi için total aktivitenin referans aralığının üst sınırının iki katından fazla olması ve total aktivitenin artışından tek bir kaynağın sorumlu olması gerekir. Alkalen fosfataz elektroforezinde ayırım gücünün yetersiz bulunduğu durumlarda, numunenin 56 ve 65 °C’de inkübe edilmesinden sonra elektroforez işleminin tekrarlanması daha isabetli değerlendirme olanağı sağlayabilir.
- **İzoenzimlerin lokalizasyonu:**
Sağlıklı bir insanda normal koşullarda dört alkalen fosfataz izoenzimi bulunabilir. Karaciğer ve kemik orijinli izoenzimler hemen hemen herkeste görüldüğü halde, intestinal kaynaklı izoenzim sağlıklı kişilerin yalnızca %25 kadarında bulunabilir. Plasental alkalen fosfataz ise normalde yalnızca hamilelik sırasında görülür. Karaciğer ve kemik kaynaklı alkalen fosfataz izoenzimlerinin oranları yaşa göre değişiklik gösterir.
Poliakrilamid jelde yapılan alkalen fosfataz izoenzim elektroforezinde anodik yönde en hızlı ilerleyen enzim fraksiyonu karaciğer kaynaklıdır.



Bunu sırasıyla kemik ve intestinal kaynaklı fraksiyonlar izler. Karaciğer ve bağırsak kaynaklı izoenzimler nispeten net sınırlı bantlar oluşturduğu halde, kemik kaynaklı izoenzim biraz daha geniş bir alana yayılmış olarak görülür. Mevcut olması durumunda plasental kaynaklı izoenzim, karaciğer ve kemik arasında bir alanda yer alır. Plasental kaynaklı izoenzim mevcudiyetinden kuşku duyulması halinde, bu olasılığın kontrolü amacıyla ısı denatürasyonundan sonra elektroforez işleminin tekrarlanması yoluna gidilir.

Test sonucunun yorumu:

Karaciğer kaynaklı alkalen fosfataz: Yaşam boyunca karaciğer izoenziminin aktivitesi büyük ölçüde sabit kalmakla birlikte, kemik kaynaklı aktivitenin değişmesine bağlı olarak, oranında değişme meydana gelir. Karaciğer alkalen fosfataz izoenzimi, kemik izoenzimine göre ısıya daha fazla dirençlidir. 56°C'de 10 dakikalık ısıtmaya %25-50 oranında direnç gösterir. 65 °C'de 30 dakikalık inkübasyon sonucunda ise aktivitesini tamamen kaybeder. Kolestatik hastalıklar, karaciğerin infiltratif ve metastatik kanserleri karaciğer kaynaklı alkalen fosfataz izoenzim aktivitesinde artış meydana getirir. Bu tür durumlarda artışın, safra kanallarını döşeyen hücrelerdeki enzim üretiminin artışına ve safra asitlerinin hücre yüzeyindeki enzimleri çözücü etkisine bağlı olduğu düşünülür.

En yüksek düzeylerine, kolestatik karaciğer hastalıklarında rastlanır. Kolestatik karaciğer hastalığı olan kişilerin %80-100 kadarında alkalen fosfataz aktivitesi artışı görülür. Akut hepatit ve siroz gibi karaciğer hastalıklarında da total alkalen fosfataz aktivitesini yükseltecek düzeyde karaciğer kaynaklı alkalen fosfataz izoenzim aktivitesi artışı olabilir. Fenobarbital gibi bazı ilaçların kullanılması da karaciğer kaynaklı alkalen fosfataz izoenzim aktivitesinde yükselmeye neden olabilir.

Kemik kaynaklı alkalen fosfataz: Kemiklerdeki osteoblast hücrelerinden kaynaklanır. Kemik gelişiminin devam ettiği yaş grubunda ve kemik tamiri gereksinimi olan durumlarda bu izoenzim aktivitesinde artış olur. Kemik izoenzimi, ısıya en duyarlı alkalen fosfataz izoenzimidir. Kemik kaynaklı alkalen fosfataz izoenzimi 56°C'de 10 dakika ısıtma ile %80-100 oranında inaktive olur.

Yetişkinlerin hemen hemen tümünde elektroforez işlemi sonucunda gözle görülebilecek düzeyde kemik alkalen fosfataz aktivitesi bulunur. Çocuklarda ve kemik gelişimi devam eden gençlerde, aktivite yüksektir. Yetişkinlerde kemik kaynaklı alkalen fosfataz aktivitesi yüksekliği, osteoblastik aktiviteyi uyaran bir nedene bağlı olarak görülür. Paget hastalığı kemik kaynaklı alkalen fosfataz aktivitesinde en fazla yüksel-



meye neden olan hastalıktır. Primer veya sekonder hiperparatiroidizm, hipo veya hipertiroidizm, diabette görülen mikroosteoporoz, akromegali, primer osteojenik sarkomlar ve kemik metastazları kemik kaynaklı alkalen fosfataz aktivitesini en fazla yükselten hastalıklardır. Kemik kırıklarının iyileşme aşamasında, paratiroid adenomlarının çıkarılmasından sonraki dönemde kemik tamiri sırasında osteoblastik aktivite artışına bağlı olarak kemik kaynaklı izoenzim aktivitesinde belirgin artış olur. Çocuklarda raşitizm ve yetişkinlerde osteomalasi de kemik alkalen fosfataz aktivitesini artıran önemli nedenler arasında bulunur. Dilantin kullanan hastalarda da kemik izoenzim aktivitesinin artabildiği bildirilmektedir.

İntestinal kaynaklı alkalen fosfataz: İntestinal AP normalde B ve O kan grubuna sahip kişilerde özellikle yağlı bir yemek sonrasındaki 2-3 saat içine görülür. Bağırsakların akut infarksiyonu, mide veya bağırsağın büyük perforasyon veya ülserasyonlarında da görülebilir. Diğer tip gastrointestinal rahatsızlıklarda bu izoenzimin görülme sıklığı nispeten düşüktür. İntestinal alkalen fosfataz, ısıya rezistans açısından karaciğer izoenzimine benzer özelliklere sahiptir. 56°C'de kısmen, 65°C'de tamamen inaktive olur.

Plasental kaynaklı alkalen fosfataz: Plasental alkalen fosfataz ilk kez gebeliğin 16. veya 20. haftalarında tespit edilir. Isıtmaya en fazla direnç gösteren alkalen fosfataz izoenzimidir. Plasental alkalen fosfataz, 65°C'de 30 dakika bekletmekle yapılan ısı testine bile dirençlidir. Gebeliğe kadar tedricen yükselir ve doğum sonrasında genellikle 4-7 gün içinde kaybolur. Plasental alkalen fosfataz, hipertansiyon, toksemi, eklampsi ve preeklampsi gibi gebelik komplikasyonlarında yükselebilir. Gebeliklerde plasental alkalen fosfataz aktivitesi geniş bir aralık içinde dağılım gösterdiğinden, bu gibi vakalarda seri halde ölçümler yapılması değerlidir. Klinik bulguların ortaya çıkışından 2-3 hafta kadar öncesinde keskin bir artış meydana gelebilir. Klinik durumun düzelmesi plasental alkalen fosfataz düzeylerinde düşmeye neden olur.

Karsinoplazental alkalen fosfataz: Sağlıklı kişilerde bulunmayan bir izoenzimidir. Malinitesi olan hastaların sadece % 3-15'inde bulunmasına rağmen, mevcudiyeti genellikle bir malinitenin varlığının göstergesidir. Çeşitli tip neoplazmlardan kaynaklanan Regan, Nagoa ve Kasahara dahil çeşitli karsinoplazental alkalen fosfataz varyantları mevcuttur. Bunların elektroforetik mobiliteleri ve fizikokimyasal özellikleri plasental alkalen fosfataz 'a benzerdir. Alkalen fosfatazın Regan varyantı normal karaciğer alkalen fosfatazından daha hızlı elektroforetik mobiliteye sa-



hiptir. Bazı tür malinitelerde, plasental alkalen fosfataz enzimi sentezi yapan genin derepresyonu sonucu yeniden üretilmeye başlandığı düşünülmektedir. Hepatosellüler karsinomalı hastalarda daha sık bulunduğu bildirilmektedir. Karsinoplasental alkalen fosfatazlar, ısıya dayanıklı olarak kabul edilmektedir. 65°C'de 30 dakika bekletilmekle minimal aktivite kaybına uğrarlar. Nagoa izoenzimlerinin ısıya direnci biraz daha düşüktür.

Numune: Serum (kırmızı veya sarı kapaklı tüp). Minimum 500 µL. İntestinal alkalen fosfataz izoenzimi bulunan kişilerde, yemek sonrasında total alkalen fosfataz aktivitesinde bir miktar artma meydana gelebileğinden numunenin açlıkta alınması daha uygun olabilir.

Çalışma yöntemi: Agaroz jel elektroforezi

Referans aralığı:

İzoenzim	Kadın	Erkek	Çocuk
Kemik (B)	20-74	23-75	62-100
Karaciğer (L1)	18-72	15-71	1-31
Karaciğer (L2)	1-14	1-9	1-7
İntestinal (I1, I2, I3)	< 14	< 14	< 14