

CONTRIBUȚII LA DIAGNOSTICUL DIFERENȚIAL AL ICTERELOR PRIN DETERMINAREA ACTIVITĂȚII FOSFATAZEI ALCALINE CU METODA BODANSKY MODIFICATĂ

E. Kifor, A. Fall

O dată cu observațiile lui *Roberts* care a constatat că activitatea fosfatazei alcaline din ser crește în icterele mecanice, determinarea activității acestui ferment a intrat în uzul clinic curent, fiind folosită ca test pentru diferențierea icterului cauzat de obstrucție față de icterul hepatocelular. Datorită răspîndirii acestei metode, s-a elaborat un vast material bibliografic conținînd uneori date contradictorii în legătură cu valoarea ei în diagnosticul diferențial. În același timp s-au făcut și încercări pentru explicarea creșterii fosfatazei serice în stările patologice.

Se știe că în serul bolnavilor de icter mecanic, activitatea fosfatazei alcaline este crescută. În anumite cazuri însă, neexplicate pînă acum, activitatea fosfatazei alcaline în serul bolnavilor de icter mecanic crește numai moderat, sau rămîne chiar în limite normale. Pe de altă parte, în unele cazuri de icter hepatocelular se observă o activitate crescută. Aceste observații diminuează valoarea metodei în diagnosticul diferențial.

Pentru explicarea activității crescute a fosfatazei alcaline în diferitele procese patologice au fost elaborate mai multe teorii. Unii autori nu țin însă seama că, determinînd o enzimă, măsurăm de fapt nu cantitatea, ci gradul ei de activitate. Acest fapt este deosebit de important, deoarece în serul sanguin se pot afla anumite substanțe care exercită o acțiune inhibitoare sau activantă asupra enzimelor. Aceeasi cantitate de enzimă în diferite condiții sau în prezența unor substanțe activatoare sau inhibitoare, desfășoară o activitate cu intensitate variabilă. În cazul fosfatazei alcaline trebuie să menționăm datele lui *Thannhauser*, potrivit cărora simplul amestec al serului icteric cu un ser normal este urmat de modificarea activității. S-a observat de asemenea că activitatea fosfatazei alcaline a serului sanguin, păstrat în frigider sau la temperatura camerei, crește. După *Bodansky*, această creștere nu are importanță patognomonică. În schimb, *Vecerek* susține că modificarea activi-

tății în timpul păstrării serului, prezintă semnificație diagnostică. Observațiile acestea sînt de natură să sugereze că în serul sanguin pot fi prezente, cel puțin în anumite condiții, substanțe care modifică activitatea fosfatazei alcaline. Pentru a contribui la elucidarea acestei probleme, am încercat să punem în evidență prezența factorilor inhibitori prin diluarea serului. Am plecat de la ipoteza că prin scăderea concentrației inhibitorului presupus, acțiunea inhibitoroasă va fi diminuată și ea. Ca urmare a scăderii acestei acțiuni, activitatea enzimei studiate s-ar putea manifesta nestingherit.

Metoda de lucru

Determinarea activității fosfatazei alcaline am efectuat-o folosind, în principiu, metoda Bodansky. Am preparat o serie de diluții din serul recoltat à jeun pe care l-am prelucrat în mai puțin de 4 ore. Ca substanță diluantă a serului am utilizat o soluție de ClNa 0,9%. În vederea determinării activității enzimatice am folosit 2 serii de diluții paralele: una pentru determinarea activității propriu-zise, iar cealaltă ne-a servit ca martor. În felul acesta, activitatea enzimatică a fost determinată în serul nediluat și diluat de 2, 4, 8 și 16 ori. După prepararea seriilor de diluții, am amestecat 1 ml de ser nediluat sau de ser diluat cu 9 ml soluție tampon cu substrat încălzit în prealabil și apoi am incubat timp de 60 minute la 37° C. După aceea reacția a fost oprită introducînd 2 ml de soluție de acid tricloroacetic 30%. Determinarea fosforului anorganic eliberat din substrat a fost efectuată conform metodei modificate a lui Bodansky, înrtebuințind în acest scop 6 ml de filtrat.

Am calculat activitatea fosfatazei alcaline pentru fiecare diluție. Activitatea găsită s-a înmulțit cu gradul de diluție. Modificările intervenite în activitate au fost raportate procentual la activitatea probei nediluate, iar rezultatele le-am consemnat prin intermediul unui grafic. Cu ajutorul acestei metode am analizat serul provenit de la 60 bolnavi, dintre care 36 suferind de icter, iar 31 fără icter. În lotul bolnavilor de icter am avut 16 cazuri cu icter mecanic confirmat clinic, chirurgical și anatomo-patologic, și 26 de cazuri de hepatită virotică.

Discuții

Determinarea activității fosfatazei alcaline prin utilizarea metodei obișnuite a arătat valori mai mari în cazurile cu icter mecanic. Totuși, uneori valorile activității au fost mai crescute în serul bolnavilor de hepatită virotică. Analizînd curbele de activitate în seria de seruri diluate, s-a observat o pronunțată creștere a activității la bolnavii de icter mecanic. La bolnavii suferind de hepatită virotică, această modificare a depășit numai într-o mică măsură limitele normale. În icterele mecanice, la o soluție de 4 ori mai diluată, am înregistrat valori medii de 336% față de activitatea serului nediluat. Notăm că această creștere nu depinde de valoarea inițială a activității din serul nediluat. În serul bolnavilor de icter hepatocelular, la o soluție tot de 4 ori diluată, creșterea activității a atins o valoare medie de numai 130% față de serul nediluat. Valori aproape identice au fost obținute și în cazurile fără icter care ne-au servit drept control (figura nr. 1). Trebuie să menționăm că în unele cazuri fără icter, ca și în leucemii sau în tumorile pulmonare am constatat o creștere a activității după diluarea serului, dar valorile înregistrate nu au atins nivelul celor din icterele mecanice.

Concluzii

Prin diluarea serului am obținut în unele cazuri o creștere a activității fosfatazei alcaline care poate fi atribuită, probabil, diminuării acțiunii factorilor inhibitori, prezenți mai ales în cazurile de icter mecanic. Date fiind rezultatele obținute, credem că se poate explica activitatea diminuată a fosfatazei alcaline din ser în unele cazuri de icter mecanic. Metoda modificată de noi a dat rezultate mai sigure,

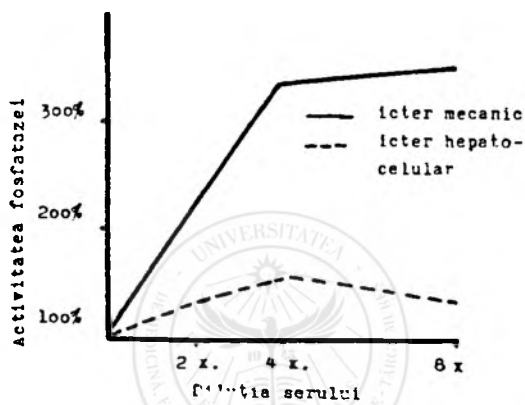


Fig. nr. 1.

indicînd prezența icterului mecanic și în cazurile în care metoda lui Bodansky nemodificată a pus în evidență o activitate scăzută a fosfatazei alcaline.

Exprimăm și pe această cale mulțumirile noastre tovarășului dr. L. Kasza, pentru ajutorul acordat în cursul cercetărilor noastre.

Sosit la redacție: 30 octombrie 1963.

Bibliografie

1. R. ABDERHALDEN: Klinische Enzymologie, Thieme V. (1958);
 2. J. BARONDESS, H. ERLE: Am. J. of Med. (1960), 9, 42;
 3. J. BIRO, E. GRÁSZ, M. RÉNYI VAMOS: Kisérl. Orvostud., 1959, 3, 238;
 4. A. FISCHER, G. SZECSEY: Kisérl. Orvostud. 1950, 6, 428;
 5. R. B. H. GRADWOHL: Clinical laboratory methods and diagnosis, London (1956);
 6. D. HALLBERG, G. JOHNSON: Acta Chirurg. Scand.. (1960), 120, 251;
 7. M. KECLIK, Z. LOJDA: Acta Med. Scand. (1960), 167, 159;
 8. P. OUDEA: Fr. Med. (1960). 441, 8;
 9. R. RICHTERICH: Enzymopathologie, Basel, (1958);
 10. J. RIEHL: Bd. (1960). 318, 138;
 11. B. VECEREK, B. CHUNDELE, J. VECEREKOVA: Zeitschr. f. ges. Inn. Med. (1956), 11, 522.
-