

LAS FOSFATASAS EN EL DIAGNOSTICO PRECOZ DEL RAQUITISMO (*)

POR EL

Dr. N. D. IRIBARNE

I.—GENERALIDADES. (DEFINICIÓN, CLASIFICACIÓN, DOSAJE)

Se designa con el nombre de fosfatasa a un grupo de enzimas del tipo de las esterasas que el actuar sobre los diversos ésteres fosfóricos los hidroliza dejando en libertad el fósforo mineral. Son fermentos activados por el ión magnesio.

Tratándose las fosfatasa de fermentos tendrán las propiedades de los mismos. Se ha logrado cristalizar cierto número de ellas, siendo de naturaleza proteínica y comportándose como catalizadores de hidrólisis.

Sensibles a la acción del calor y a los cambios de temperatura y Ph su actividad máxima la tienen a una temperatura próxima a la del cuerpo humano.

La extraordinaria importancia de este grupo de enzimas se deduce, con toda claridad de la posición clave que ocupan los compuestos fosforados en los procesos biológicos más diversos. Los fosfatidos, los ésteres fosfóricos de hidratos de carbono y los productos fosforados de su disociación y desdoblamiento así como los nucleótidos intervienen con carácter imprescindible en el metabolismo muscular, osteogénesis, en la producción de leche, etc.

Robinson²⁰ en 1923, fué el que señaló por primera vez el papel de la fosfatasa en la mineralización del cartílago y Kay¹⁴ en 1928, demuestra que todos los tejidos tienen actividad fosfatásica.

La clasificación de estas enzimas ha sido hecha en base al éster sobre el cual actúan habiéndose dividido en seis grupos: fosfomonoesterasas, fosfodiesterasas, pirofosfatasa, metafosfatasa, fosfoamidasa y fosfatasa no clasificadas (lecitinasas, fitasas, etc.).

Actualmente tiene interés la determinación cuantitativa de algunas conocidas corrientemente como fosfatasa siendo en realidad fosfomonóesterasas, es decir, que hidrolizan los ésteres primarios del ácido fosfórico.

Sunderman²¹ (1942), según su Ph óptimo, las clasificó en cuatro grupos:

* Comunicación presentada a la Sociedad Argentina de Pediatría en la sesión del 28 de junio de 1949.

- a) *Fosfatasa con Ph óptimo 9,3*: Se encuentran en los cartílagos de osificación, sangre, plasma, suero, leucocitos, riñón, tubos seminíferos.
- b) *Fosfatasa con Ph óptimo 6*: En los eritrocitos y psiblemente en la levadura.
- c) *Fosfatasa con Ph óptimo 5*: En el suero, próstata, riñón, bazo, hígado, páncreas.
- d) *Fosfatasa con Ph óptimo 3,4*: En la takadiastasa y el aspergillus orizae.

La presencia de una fosfatasa en el suero fué señalada por Martland, Hausman y Robinson¹⁰ (1924), y por Kay¹² en 1930, quien demostró que su acción se desarrolla en el lado alcalino (Ph 9,1 a 9,7), estableció una técnica de titulación y supuso que debía ser similar a la de los huesos¹³. La determinación de esta fosfatasa alcalina o fosfatasa del plasma es importante en el diagnóstico de enfermedades de los huesos y del hígado. Junto a esta fosfatasa Roche¹⁹ (1931), Belfanti, Contardi y Ercoli² (1935), demostraron la existencia de otra fosfatasa cuyo Ph óptimo se encuentra en el *medio ácido*, según Gutman y Gutman⁷ (1940) y Shinovara²² y colaboradores $5,0 \pm 0,15$ a 37° , pareciendo ser idéntica a la que se encuentra en la próstata y existiendo un aumento considerable de ella en los casos de cáncer de próstata aunque su origen no es exclusivamente prostático, pues se ha encontrado su aumento en mujeres y niños, Gutman⁸ (1942). La importancia de la fosfatasa para la *osteogénesis se deduce de que no se las encuentra en el cartilago en cantidades demostrables químicamente hasta que aparecen los primeros signos histológicos de osificación*, siendo mucho más abundantes en la zona de osificación que en el resto del hueso. Se piensa que la fosfatasa separa el fosfato de los ésteres fosfóricos de la sangre, el cual se une con el calcio existente en ella formando fosfato cálcico insoluble que precipita. Sin embargo, existen asimismo grandes cantidades de fosfatasa en tejidos que no se osifican y también la contienen en abundancia los huesos raquíuticos cuya osificación está trastornada por lo que se supone debe intervenir además de la fosfatasa un "segundo mecanismo" de naturaleza desconocida.

DOSAJE.—*El principio usado para la determinación de la fosfatasa* consiste en hacer actuar el plasma, suero o el extracto de tejido sobre un éster fosfórico determinado, al Ph y temperatura óptimas y valorar después de un tiempo fijo la cantidad de substrato hidrolizado. Ahora bien: *las diferentes enzimas* hidrolizan con distinta velocidad los diferentes ésteres fosfóricos. Los ésteres más utilizados son el *B-glicerofosfato* propuesto por Kay¹³ (1930) y utilizado con la misma técnica perfeccionada por Bodansky²⁵ (1937) y el *fenil-fosfato disódico* substrato utilizado por King y Armstrong¹⁵ (1934). La técnica más utilizada actualmente, *que emplea el glicerofosfato de sodio*, es la propuesta por Shinowara, Jones, Reinhart²² (1942) que valora tanto la fosfatasa ácida como la alcalina.

Fenilfosfato disódico, King y Armstrong utilizan este substrato y en lugar de titular el fosfato liberado por la enzima valorizan el fenil. La ventaja que presenta es que la proporción de fenol separado es de 2-3 veces mayor que la de fosfato hidrolizado del B-glicerofosfato; a Ph 5 y en medio alcalino la diferencia es mayor Gutman y Gutman⁷ (1940).

Además el valor cromogénico del fenol es mayor que el del ácido fosfórico por esta razón es más útil que el glicerofosfato para valorar la fosfatasa ácida cuya proporción en sangre es muy baja.

El fundamento del método es el siguiente: La actividad de la fosfatasa de suero se expresa en unidades por ciento. Una unidad de fosfatasa es la cantidad de enzima que va a liberar 1 mg de fenol cuando se lo deja actuar sobre un exceso de fenilfosfato disódico a un Ph 9 durante 30 minutos a 37°5.

II.—LAS FOSFATASAS EN EL DIAGNOSTICO PRECOZ DEL RAQUITISMO

N. Morris, O. D. Peden, J. D. Small y M. M. Stevenson¹⁸, sostienen que la elevación de la fosfatasa del plasma es un signo precoz anterior a las manifestaciones radiológicas raquíticas. Dicen que toda enfermedad ósea en la que haya neoformación de hueso trae aumento de fosfatasa. Ha sido establecido por Frasen y Mac Lean⁸, que ella es formada en los osteoblastos siendo factor importante en la osificación. Explica Sellek Azzi⁸ que, como ya hemos dicho, son enzimas distribuidas en el organismo: sangre, hueso, hígado, riñones, próstata, etc., y que en los huesos actuando sobre los ésteres monofosfóricos liberan el fósforo mineral. En los enfermos óseos al aumentar la misma debido a la actividad osteoblástica pasa a la sangre.

Son sus valores normales en el lactante y niño menor 40 a 60 unidades Cayla %, y 5 a 12 unidades Bodansky %, 6 a 20 King y Armstrong %. Se encuentra porcentaje aumentado en el raquitismo hiperparatiroidismo, fracturas, (período de reparación), enfermedades del sistema linfóide y mieloide con localizaciones óseas, ictericias obstructivas, sarcoma osteogénico, osteítis deformante y en general en toda enfermedad que provoque proliferación osteoblástica. Andersen¹, sostiene que la fosfatasa en el niño raquítico se encuentra siempre aumentada y que puede ser un índice su dosaje para comprobar la efectividad del tratamiento.

Es indudable que en todos los casos de raquitismo florido se comprueba un descenso franco de la cantidad de fósforo inorgánico pero la hipofosforemia en sí, no es siempre un signo precoz ni patognomónico del raquitismo³. Hess¹¹, ha hecho notar que puede faltar en casos evidentes y que si en algunos casos es un signo precoz, en la mayoría es precedida por el rosario costal, encontrándose con mayor frecuencia en las formas graves o medianas con signos radiológicos evidentes.

No así las fosfatasa cuyo dosaje supongo es de gran valor en los

casos precoces y dudosos. Sabemos que en el diagnóstico del raquitismo el rosario costal es el signo precoz *que da la marca* a la afección. Reconocido por todos los autores como el de más valor para el diagnóstico es sin duda infaltable en todo enfermito de raquitismo antecedido a la hipofosforemia (Hess)³¹.

Ahora bien; es de observación relativamente frecuente la presencia de rosario costal o cráneotabes en niños de menos de tres meses, *edad por encima de la cual está la época de predilección del raquitismo*, pero es también fácil la confusión con engrosamientos ligamentosos o relieves angulosos de la articulación condrocostal de los primeros meses de la vida (Garrahan y Muzio)⁴. *Es en estos casos precoces y en los que no se encuentran manifestaciones radiológicas ni hipofosforemia donde pienso cobra valor la investigación de las fosfatasas, expresión de la actividad osteoblástica inicial que se manifiesta por un aumento de su porcentaje en sangre.*

Recordemos que en la fase *inicial* del raquitismo se desarrolla un *proceso irritativo*, que origina proliferación y vascularización anormal del cartilago.

Dice Marfan³⁷: "la sobreactividad anormal y aberrante de las células de la médula ósea y del cartilago parece ser el fenómeno inicial del proceso raquítico; ello constituye un hecho esencial".

Agreguemos que según Schmorl² (investigaciones necróscicas de 386 casos), entre dos y tres meses se encuentran lesiones microscópicas raquíticas en el 60 % de los casos. Sus investigaciones fueron realizadas en Dresde donde el raquitismo es sumamente frecuente.

Hago mención que Andersen³ (1935) presume que un aumento de fosfatasa sin la simultánea existencia de síntomas clásicos puede indicar una latente avitaminosis D, incluso él piensa que su determinación puede quizás ser provechosa para establecer la óptima dosis de vitamina D en el tratamiento del raquitismo.

No debe llamar la atención que encontrándose rosario costal no se encuentren otros signos clínicos ni radiológicos, pues esta manifestación sumamente precoz los antecede (Hess)³¹ y suele presentarse con cierta frecuencia antes del cráneotabes, que no es manifestación patognomónica de esta afección.

En un estudio sobre la frecuencia del raquitismo opina Garrahan⁴: "El rosario costal puede decirse es constante en el raquitismo, los restantes signos tienen valor relativo". El cráneotabes del primer cuatrimestre tiene valor discutible aunque las últimas investigaciones tienden a considerarlo como signo de probabilidad. Hacen notar Garrahan y Muzio⁵ la existencia de rosario costal y cráneotabes sin lesión radiográfica alguna de ambas muñecas.

En base a estos conocimientos comencé a investigar a niños concurrentes a la Maternidad Ramón Sardá y Casa Cuna de 2 a 2 y medio

IRIBARNE.—FOSFATASAS EN EL RAQUITISMO

197

meses de edad en la que no se piensa en raquitismo y que presentasen marcado engrosamiento condrocotal o cráneo tabes y niños de esas mismas edades tomados al azar para establecer comparaciones pidiéndoseles los siguientes elementos de diagnóstico: fosfatasas, fosforemia, calcemia, radiografía y Chediak, esta última reacción debido a que Juan Carlos Traversaro⁹ refiere haber encontrado fosfatasas aumentadas en casos de lesión ósea por sífilis.

Los resultados obtenidos los agrupo en el siguiente cuadro.

Maternidad Ramón Sardá

NIÑOS DE 2 A 2½ MESES CON MARCADO ENGROSAMIENTO CONDROCOTAL O CRANEOTABES

Nombres	C. tabes o R. costal	Fosforemia	Calcemia	Fosfatasas	Chediak	Radiogr.
Alicia J. Linares	C. tabes y engros. condrocotal	6,2 mg%	10,9 mg%	27 U. KyA	(—)	n. d. p.
Horacio Silas ..	Engrosamiento condrocotal		11,5 "	23 U. KyA	(—)	n. d. p.
Victor Veiga ..	Engrosamiento condrocotal	5,2 "	11,2 "	30 U. KyA	(—)	n. d. p.
Carlos Garay ..	Engrosamiento condrocotal	5,3 "		35 U. KyA	(—)	n. d. p.
Oscar Sterky ..	Cráneo tabes		10,8 "	44 U. KyA	(—)	n. d. p.
Alfredo Leston .	Engrosamiento condrocotal	5,4 "	10,7 "	35 U. KyA	(—)	n. d. p.
Carlos Guatelli .	C. tabes y engros. condrocotal	5,1 "	11,9 "	20 U. KyA	(—)	n. d. p.
María S. García	Engrosamiento condrocotal	5,3 "	10,9 "	36 U. KyA	(—)	n. d. p.
Julio Pasalia ..	Cráneo tabes	5,7 "	11,8 "	25 U. KyA	(—)	
Héctor O. González ..	Engrosamiento condrocotal	6 "	10,6 "	40 U. KyA		

Casa Cuna

NIÑOS TOMADOS AL AZAR; EDAD ENTRE 2 Y 2½ MESES

Se encuentran 7 casos normales y 3 casos con fosfatasas medianamente elevadas

Nombres	C. tabes o R. Costal	Fosforemia	Calcemia	Fosfatasas	Chediak	Radiog.
Nélida Milano .	No tiene	4,2 mg%	7,2 mg%	11 U. KyA	(—)	
Alejandro Bearlotti ..	Dudoso	5,3 "	12,7 "	10 U. KyA	(—)	n. d. p.
Mario Wisosky .	No tiene	4,5 "	10,5 "	9,6 U. KyA	(—)	n. d. p.
Juan Carlos Hombanciche	No tiene	5,2 "	9,4 "	8,1 U. KyA	(—)	n. d. p.
Jorge E. Silva .	No tiene	5 "	10 "	16 U. KyA	(—)	n. d. p.
Oscar R. Vega	No tiene	4,5 "	7,5 "	8,5 U. KyA	(—)	estrías en epífisis
Héctor F. de Rozas ..	Engrosamiento condrocotal	5,13 "	12,5 "	25,8 U. KyA	(—)	n. d. p.
Rubén O. Lezcano ..	Engrosamiento condrocotal	5,6 "	11 "	28,1 U. KyA	(—)	
Raúl Agostin ..	Dudoso			28,2 U. KyA		
Graciela E. Zinzi	Dudoso	6,9 "	11,6 "	6 U. KyA	(—)	

CONCLUSIONES

Del estudio de estos casos, se desprenden las siguientes conclusiones:

- a) Que las fosfatasas pueden estar aumentadas a una edad en que no se sospecha el raquitismo.
- b) Que el calcio, como ocurre habitualmente en el raquitismo no complicado, permanece inalterado (Hess).
- c) Que la fosforemia conserva sus valores normales, lo que estaría de acuerdo con la precocidad de los casos presentados.
- d) Que las radiografías no presentan alteraciones raquíticas, ya que el aumento de fosfatasas y el rosario costal preceden a dichas alteraciones, que habitualmente no son precoces.
- e) Que para la finalidad de la clínica de acuerdo con mis casos, supongo de más interés el dosaje de las fosfatasas y no de los otros elementos sanguíneos cuya alteración es más tardía.

RESUMEN

Teniendo en cuenta que la *faz inicial* del raquitismo es una proliferación osteoblástica y que las fosfatasas son fermentos de origen celular se han investigado sus valores en sangre en niños que poseen como única manifestación *probable* de raquitismo, un engrosamiento condrocotal o cráneos tabes a una edad (2 a 2 y $\frac{1}{2}$ meses) en que no se piensa en raquitismo, considerando el aumento de las fosfatasas de acuerdo con los casos presentados como un elemento de importancia en el diagnóstico precoz de dicha enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

NACIONAL

1. De Filippi, F.—Diagnóstico de las enfermedades de Parrot raquitismo y escorbuto en el lactante. "La Semana Méd.", mayo 1931, p. 1431.
2. Garrahan, J. P.—Raquitismo. Ed. "El Ateneo", Bs. Aires, 1946.
3. Garrahan, J. P. y Muzio, E.—La fosfatemia en el raquitismo del lactante. "Arch. Arg. de Ped.", enero 1935, p. 15.
4. Garrahan, J. P. y Muzio, E.—Sobre la frecuencia del raquitismo en el lactante. "La Semana Méd.", agosto 1934, p. 392.
5. Garrahan, J. P. y Muzio, E.—Sobre el raquitismo del lactante (algunas investigaciones radiológicas, clínicas y químicas. "La Semana Méd.", 13 dic. 1934, n° 50, p. 1805.
6. Martínez, C. O.—La fosfatasa de la sangre y sus relaciones con las glándulas de secreción interna. Tesis de la Fac. de C. Méd. de Bs. Aires, 1936.
7. Sujoy, E.—Raquitismo en la infancia. Tesis Bs. Aires, 1936.
8. Sellek Azzi, A. y J. E. Castro.—Sobre la fosfatasa del suero sanguíneo en el raquitismo. "Arch. de Med. Inf.", abril-mayo-junio 1942, vol. XI, n° 2.
9. Traversaro, J. C. y Quesada, R.—Fosfatasa y raquitismo. "Bol. del Inst. de Maternidad, 1940.

EXTRANJERA

1. Andersen, O.—Plasma phosphatase in normal and rachitic children. "J. A. M. A.", 104-24, june 15, p. 2219.
2. Belfonte, S.; Contardi, A. and Ercoli, A.—Studies on the phosphatase. The influence of some electrolytes on the animal tissue. Phosphatase of the liver, kidney, serum and bones of the rabbit. "Bioch. J.", 1935; 29, 517.

3. Barnes, J. D.; Kaucher, M. and Munks, B.—Metabolic studies on rachitic infants "Am. J. Dis. of Child.", 1946; 71, 622-646.
4. Bodansky, A.—Determination of serum inorganic phosphate and serum phosphatase. "Am. J. Clin. Path.", Tech. Supp. 1937, 1, 51.
5. Bodansky, A.—Notes on the determination of serum inorganic phosphate and serum phosphatase activity. "Jour. Biol. Chem.", 1937; 120, 167.
6. Cantarow and Trumper.—Clinical Biochemistry, 1945.
7. Gutman, A. B. and Gutman, E. B.—Estimation of "acid" Phosphatase activity of blood serum. "J. Biol. Chem.", 1940; 136, 201.
8. Gutman, A. B.—"Serum acid" phosphatase in patients with carcinoma of the prostate gland. "J. A. M. A.", 1942; 120, 1112.
9. Green, A. A. and Golowick, S. P.—Chemistry and metabolism of the compounds of phosphorus. "Ann. Rev. Bioch.", 1944; 13, 155-186.
10. Greenberg, D. M.; Lucia, S. P. and Weitzman, H. C.—The estimation of serum phosphate activity with disodium phenil phosphate. "J. Lab. Clin. Med.", 1939; 25, 634.
11. Hess, A. F.—Rickets including osteomalacia and tetany. Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1929.
12. Kay, H. D.—Plasma phosphatase. I. Method of determination some propierties of the enzyme. "J. Biol. Chem.", 1930; 89, 235.
13. Kay, H. D.—Plasma phosphatase II. The enzyme in disease particulary in bone disease. "J. Biol. Chem.", 1930; 89, 249.
14. Kay, H. D.—The phosphatase of mamalian tissues. "Bioch. J.", 1928; 22, 855.
15. King, E. J. and Amstrong.—A convenient method for determining serum and bile phosphatase activity. "Canadian M. A.", 1934; 31, 376.
16. Martland, M.; Hausman, F. and Robison, R.—The phosphoric estears of blood. "Bioch. J.", 1924; 18, 1152.
17. Marfan, A. B. et Lemaire.—Precis d'hygiène et des maladies de la première enfance. Paris, 1930, p. 748.
18. Morris, N.; Stevenson, M. M.; Peden, O. D. and Small, J. D.—Significance of plasma phosphates in diagnosis and prognosis of rickets. "Arch. Dis. Child. Lond.", 1937; 12, 45.
19. Roche, J.—Blood phosphatase. "Bioch. J.", 1931; 25, 1724.
20. Robinson, R.—The possible significance of hexosa phosphoric ester in osification. "Bioch. J.", 1923; 17, 286.
21. Sunderman, F. W.—Recent advances in the significance and interpretation of phosphatase measurements in disease. "Am. J. Clin. Path.", 1942; 12, 404.
22. Shinowara, G. Y.; Jones, L. M. and Reinhart, H. L.—The estimation of serum inorganic phosphate and "acid" and "alkaline" phosphatase activity. "J. Biol. Chem.", 1942; 142, 921.