

## ไอโซเอนไซม์ที่น่าสนใจของ Alkaline Phosphatase

วิโรจน์ ไหววนิชกิจ\*

นารา พริดโกที\* สุนีย์ ธีระศักดิ์ศิลป์\*\*

Wiwanitkit V, Paritpokee N, Theerasaksilp S. Interesting Alkaline Phosphatase isoenzymes. Chula Med J 1999 Mar; 43(3): 177-88

*Alkaline Phosphatase is an enzyme that exists in all tissue and organs. It, like most other enzymes, is composed of multiple molecular forms or isoenzymes. The isoenzymes of Alkaline Phosphatase are unique in that some organs have only one major isoenzyme rather than multiple isoenzymes forms. A number of laboratory procedures have been used for the routine evaluation of isoenzymes. Using the separated isoenzymes pattern, physician can make differential diagnosis and follow up many diseases. To advice readers about those isoenzymes, this article was reviewed.*

**Key words :** *Alkaline Phosphatase, Isoenzyme, Electrophoresis.*

Reprint request: Wiwanitkit V. Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. January 4, 1999.

\* ภาควิชาเวชศาสตร์ชันสูตร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

\*\*ฝ่ายเวชศาสตร์ชันสูตร โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

Alkaline Phosphatase เป็นเอนไซม์ (enzyme) ชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่ช่วยเร่ง (catalyze) ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของสารประกอบ Phosphate ester ในสภาวะต่าง (alkaline) ในสภาวะปกติพบเอนไซม์ ชนิดนี้ได้ในเซลล์ของทุกเนื้อเยื่อแต่จะพบมากในกระดูก ตับ ลำไส้ และรก<sup>(1-6)</sup> ในสภาวะปกติสามารถตรวจพบ เอนไซม์ ชนิดนี้ได้ ในตัวอย่างเลือดเนื่องจากตามปกติมีการสลายของเซลล์ ปลดปล่อยเอนไซม์ชนิดออกสู่กระแสเลือดได้ แต่ถ้าพบเอนไซม์ ชนิดนี้มากย่อมบ่งบอกถึงสภาวะที่มีการตายของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ เพิ่มขึ้นจากปกติ จากหลักความเป็นจริงข้อนี้การตรวจระดับ alkaline Phosphatase โดยรวมจึงไม่มีประโยชน์ในการวินิจฉัยโรคมากเท่าใดนัก แต่เนื่องจากเอนไซม์ชนิดนี้มีหลายไอโซเอนไซม์ (isoenzyme) และอวัยวะต่างกันจะมี ไอโซเอนไซม์ต่างกันโดยจะมีระดับของไอโซเอนไซม์ชนิดหนึ่งเป็นหลัก ดังนั้นจึงสามารถใช้ประโยชน์จากการตรวจหาไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase ในการวินิจฉัยโรคได้<sup>(7)</sup>

แม้ไอโซเอนไซม์เหล่านี้จะสามารถเร่งปฏิกิริยาเดียวกันได้ แต่ก็มีข้อแตกต่างกันในด้านคุณสมบัติเคมีกายภาพ (physicochemical) และด้านคุณสมบัติการแยกสารด้วยไฟฟ้า (electrophoretic property) เราสามารถใช้คุณสมบัติเหล่านี้ช่วยแยกไอโซเอนไซม์เหล่านี้ได้ โดยการรวมวิธีทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการแยกไอโซเอนไซม์นี้หลายวิธี<sup>(8-12)</sup>

### การเก็บและการส่งสิ่งส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

สิ่งส่งตรวจสำหรับการตรวจหาระดับไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase ได้แก่ เลือด โดยการเก็บสิ่งส่งตรวจทำได้โดยการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ ต้องให้ผู้ป่วยงดน้ำและอาหารก่อนการเจาะเลือด<sup>(10-13)</sup> เนื่องจากพบว่าในผู้ป่วยที่เลือดหมู่ B และ O จะมีระดับของ Alkaline Phosphatase สูงได้ในช่วง 2 ชั่วโมงหลังจากรับประทานอาหารที่มีไขมันสูง แนะนำให้เจาะเลือดใส่หลอดที่ไม่ใส่สารกันเลือดแข็ง (anticoagulant) ปริมาณ 3 ลูกบาศก์เซนติเมตร ไม่ควรใช้หลอดที่ใส่สารกันเลือดแข็ง EDTA

oxalate หรือ citrate เนื่องจากจะมีผลยับยั้งไอโซเอนไซม์ได้<sup>(12,14)</sup> ควรส่งเลือดที่เจาะแก่ห้องปฏิบัติการทันที หากไม่สามารถทำการตรวจได้ทันทีให้ทำการปั่นแยกเม็ดเลือดแดง ออกแล้วเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิธีนี้สามารถเก็บไว้ได้ 24 ชั่วโมง<sup>(9,10,12)</sup> หากเก็บตัวอย่างเลือดไว้นานกว่านี้จะส่งผลให้ระดับของ Alkaline Phosphatase ที่ตรวจได้สูงขึ้น<sup>(15)</sup>

### การตรวจและการแปลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

การตรวจเพื่อแยกไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase มีหลายวิธีโดยแต่ละวิธีจะมีหลักการในการแยกต่างกันอย่างออกไป โดยวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบันได้แก่ การยับยั้งด้วยความร้อน (heat inactivation) การยับยั้งด้วยสารเคมี (chemical inhibition)<sup>(8-10)</sup> และการแยกสารด้วยไฟฟ้า (electrophoresis)<sup>(1-3,10-11)</sup> (ตารางที่ 1) โดยจะใช้วิธีการเหล่านี้ร่วมกันในการตรวจหาไอโซเอนไซม์ โดยมีหลักการดังต่อไปนี้

- เนื่องจากการใช้วิธีหนึ่งวิธีใดเพียงวิธีเดียวไม่สามารถตรวจแยกไอโซเอนไซม์ได้ทุกชนิดเนื่องจากไอโซเอนไซม์บางตัวอาจมีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพหรือคุณสมบัติการถูกแยกด้วยไฟฟ้าอย่างใดอย่างหนึ่งเหมือนกันได้ จึงจำเป็นต้องใช้หลายวิธีร่วมกันในการตรวจหาระดับของไอโซเอนไซม์
- แนะนำให้ใช้การแยกด้วยวิธีที่ใช้หลักการแยกด้วยคุณสมบัติทางเคมีกายภาพก่อนการแยกด้วยวิธีการแยกด้วยไฟฟ้า โดยหากใช้วิธีการแยกด้วยการยับยั้งด้วยความร้อนจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ให้ถูกต้อง ส่วนวิธีการยับยั้งด้วยสารเคมีจำเป็นต้องใช้สารเคมีหลายชนิดและต้องใช้สารเคมีที่เป็น L-form เท่านั้น<sup>(8)</sup> ดังนั้นการแยกด้วยวิธีนี้จึงเป็นที่นิยมน้อยกว่า
- การแยกไอโซเอนไซม์ด้วยไฟฟ้าสามารถใช้ตัวกลางค้ำจุนได้หลายชนิดเช่น agarose, starch, polyacrylamide หรือ cellulose acetate ก็ได้<sup>(9-10)</sup> โดยวิธีการนี้ใช้ตัวอย่างเลือดเพียง 10 ไมโครลิตรเท่านั้น โดยจะต้องแยกที่ pH 8.6-9.0

และใช้หลักการ fluorometric และ colorimetric ในการทำให้สามารถมองเห็นแถบของไอโซเอนซิมที่แยกได้

- ฟิงจะลึกไว้เสมอว่าการตรวจหาระดับไอโซเอนซิมนั้น จะไม่สามารถแปลผลการตรวจได้ถ้าไม่ตรวจหาระดับเอนซิมโดยรวมด้วย

ตารางที่ 1. แสดงขั้นตอนการทำการแยกสารด้วยไฟฟ้า (electrophoresis)<sup>(1-3)</sup>

ขั้นตอนการทำการแยกสารด้วยไฟฟ้า
1. เตรียม buffer ใส่ chamber เตรียมน้ำยาล้อมสีให้เรียบร้อย
2. ทำตัวกลางค้ำจุนให้เปียกด้วย buffer
3. apply สารตัวอย่างลงบนตัวกลางค้ำจุน
4. ทำการแยกโดยปล่อยกระแสไฟฟ้าจากเครื่อง power supply ให้เข้าไปใน chamber ทำให้เกิดความต่างศักย์ ปริมาณตามต้องการในระยะเวลาที่กำหนด
5. ย้อมสีเพื่อให้โปรตีนที่แยกออกแต่ละแถบติดสี
6. หาปริมาณโปรตีนแต่ละ band โดยเครื่อง densitometer และบันทึกออกมาเป็นรูปกราฟ หรือตัดแต่ละแถบ ออกมาล้าง(elution) แล้วหาความเข้มของสีด้วย spectrophotometer

การแปลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการจำเป็นจะต้องทราบค่าระดับ Alkaline Phosphatase โดยรวม<sup>(16)</sup> (ตารางที่ 2) ด้วย ค่าระดับ Alkaline Phosphatase โดยรวม มีผลจากหลายปัจจัย<sup>(1-3)</sup> (ตารางที่ 3) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลถึงค่าระดับของไอโซเอนซิมด้วย จำเป็นจะต้องคำนึงถึงปัจจัยเหล่านี้ก่อนการแปลผลด้วย

ตารางที่ 2. แสดงค่าปกติของระดับ Alkaline Phosphatase โดยรวม<sup>(16)</sup> (วิธี DGKC, optimized, 30 degree; AMP buffer)

อายุ	ระดับ (U/L)
1 วัน	< 238
2-5 วัน	< 270
6 วัน - 6 เดือน	< 522
7 เดือน - 1 ปี	< 346
2-3 ปี	< 341
4-6 ปี	< 280
7-12 ปี	< 320
13-17 ปี, หญิง	< 191
13-17 ปี, ชาย	< 388
ผู้ใหญ่, หญิง	< 195
ผู้ใหญ่, ชาย	< 220

ตารางที่ 3. แสดงตัวอย่างปัจจัยที่มีผลต่อค่าระดับ Alkaline Phosphatase โดยรวม<sup>(1-3)</sup>

ปัจจัย	มีระดับสูง	มีระดับต่ำ
1. ปัจจัยทางกายภาพ		
ชนิดของสารกันเลือดแข็ง		EDTA, oxalate, citrate
• ระยะเวลาระหว่างการเก็บตัวอย่างและการตรวจ	นานเกิน 24 ชั่วโมง	
2. ปัจจัยทางสรีรวิทยา		
• เพศ	ชาย	หญิง
• การตั้งครรภ์	ตั้งครรภ์	
• หมู่เลือด	หมู่เลือด B และ O	
• อายุ	วัยเด็ก	
3. ปัจจัยทางพยาธิวิทยา		
• โรคตับ	ตับอักเสบ ตับแข็ง	
• โรคกระดูก	โรคกระดูกพรุน	
• neoplasm	มะเร็งกระดูก มะเร็งตับ มะเร็งรังไข่ มะเร็งต่อมน้ำเหลือง	

จากตัวอย่างเลือดจากคนปกติเมื่อนำมาแยกหาไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase<sup>(1-3,16)</sup> (ตารางที่ 4) จะสามารถพบไอโซเอนไซม์ได้ 3 ชนิด คือ ไอโซเอนไซม์ชนิด liver ชนิด intestinal และ ชนิด bone แต่ไม่พบไอโซเอนไซม์ที่ผิดปกติชนิดอื่น นอกจากนี้ยังพบว่าในผู้ป่วยที่มีระดับ Alkaline Phosphatase โดยรวมอยู่ในเกณฑ์ปกติอาจพบมีไอโซเอนไซม์ที่ผิดปกติได้

ตารางที่ 4. แสดงค่าปกติของไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase<sup>(1-3,16)</sup>

ไอโซเอนไซม์	ค่าปกติ
1. fast liver	0 %
2. bone	50 %
3. liver	50 %
4. intestinal	0 - 10 %

#### ไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase

เมื่อนำตัวอย่างเลือดมาแยกหาไอโซเอนไซม์ด้วยวิธีการแยกด้วยไฟฟ้า (electrophoresis) จะสามารถแยกไอโซเอนไซม์ออกมาเป็นแถบ (band) ได้ (รูปที่ 1, 2) โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 6 แถบ (ตารางที่ 5) ทั้งนี้ในบางแถบอาจมีหลายไอโซเอนไซม์ ในแถบนั้นได้จึงจำเป็นต้องใช้วิธีอื่น ๆ ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นในการช่วยแยกไอโซเอนไซม์เหล่านั้น

โดยไอโซเอนไซม์ที่เป็นที่รู้จักในปัจจุบันที่พบได้ในแต่ละแถบจากการแยกด้วยไฟฟ้าจะเป็นดังต่อไปนี้

1. แถบไอโซเอนไซม์ที่ตำแหน่งตรงกับ serum gamma globulin

ก. แถบที่สามารถพบได้ในคนปกติ

- Intestinal<sup>(8,12-13)</sup> เป็นไอโซเอนไซม์ที่สามารถพบได้ในคนปกติโดยเฉพาะผู้ที่มีหมู่เลือด B และ O ภายหลังจากการรับประทานอาหารที่มีไขมันสูง เชื่อว่าหลังจากเยื่อผนัง

ของลำไส้ ในผู้ป่วยที่มีการทะลุของลำไส้ (bowel perforation) แผลของลำไส้ (intestinal ulcer) โรคเบาหวาน (diabetes mellitus) จะพบว่ามียระดับของไอโซเอนไซม์นี้สูง ข. แถบที่ไม่สามารถพบในคนปกติ

- PA หรือ Pancreatic<sup>(17)</sup> เป็นไอโซเอนไซม์ ที่รายงานครั้งแรกโดย Cha จากการแยกตัวอย่างเลือดจำนวน 16 รายที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับตับอ่อน

- แถบที่เกิดจากสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างอิมมูโนโกลบูลินซึ่งโดยมากมักเป็นชนิด IgG กับ ไอโซเอนไซม์ (immune complex) สามารถพบได้ในโรคระบบทางเดินประสาทและมะเร็ง หากพบสารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้ย่อมแสดงถึงการพยากรณ์โรคที่ไม่ดี<sup>(18)</sup> พบว่าแถบของไอโซเอนไซม์ที่มีตำแหน่งอยู่ในช่วงนี้ทั้ง 3 แถบไม่ซ้อนทับกันเมื่อแยกด้วยไฟฟ้า

2. แถบไอโซเอนไซม์ที่ตำแหน่งอยู่ระหว่าง serum alpha 2 และ serum beta globulin

ก. แถบที่สามารถพบได้ในคนปกติ

- Bone เป็นไอโซเอนไซม์ที่พบได้ในคนปกติ โดยจะพบมีระดับสูงในเด็ก เป็นผลมาจากการสร้างกระดูก (osteoblastic activity) และยังพบมีระดับสูงในผู้ใหญ่ที่มีอายุมากกว่า 50 ปี เป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของกระดูก (skeletal change) ในผู้ป่วยที่มีโรคของกระดูกจะมีระดับของไอโซเอนไซม์นี้สูงมาก นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างระดับไอโซเอนไซม์ นี้กับระดับ hydroxyproline ในปัสสาวะ<sup>(19)</sup>

ข. แถบที่ไม่สามารถพบได้ในคนปกติ

- Placental<sup>(20-21)</sup> เป็นไอโซเอนไซม์ ที่สามารถพบได้ในผู้ที่ตั้งครรภ์ โดยจะพบสูงขึ้นในช่วงปลายของไตรมาสแรกของการตั้งครรภ์จนถึงหนึ่งสัปดาห์ถึงหนึ่งเดือนหลังการคลอด การสูงขึ้นอย่างผิดปกติของระดับไอโซเอนไซม์ นี้พบได้ในกลุ่มผู้ป่วย ครรภ์เป็นพิษ (toxemia) แต่เนื่องจากการสูงขึ้นของระดับไอโซเอนไซม์นี้มีค่าไม่แน่นอนจึงไม่มีประโยชน์ในการใช้เป็นเครื่องมือคัดกรองโรค

- Renal<sup>(22)</sup> เป็นไอโซเอนไซม์ที่พบได้ในผู้ป่วยที่มีโรคไต

ผู้ป่วยที่มีการปฏิเสธอวัยวะหลังการปลูกถ่ายไต (renal transplantation) สามารถใช้ประโยชน์จากการตรวจติดตามระดับไอโซเอนซัยม์ นี้ในการเฝ้าระวังภาวะไตวาย (renal failure) ในผู้ป่วยที่ได้รับการล้างไต (dialysis)

- Regan<sup>(23)</sup> เป็นไอโซเอนซัยม์ที่สามารถแยกได้ในผู้ป่วยที่มีโรคมะเร็งปอด (bronchopulmonary cancer) มะเร็งรังไข่ (ovarian cancer) มะเร็งลำไส้ใหญ่ (adenocarcinoma of colon) มะเร็งเต้านม (breast cancer) สามารถใช้ระดับไอโซเอนซัยม์นี้ในการติดตามผลการรักษาผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวได้

- Nagao<sup>(7)</sup> เป็น ไอโซเอนซัยม์ที่พบได้ในผู้ป่วยที่มีโรคมะเร็งทิวติงกูมิของเยื่อหุ้มปอด (metastatic carcinoma of pleura) มะเร็งของตับอ่อน (adenocarcinoma of pancreas) และ มะเร็งของท่อน้ำดี (adenocarcinoma of bile duct)

- Regan variant<sup>(7)</sup> เป็นไอโซเอนซัยม์ที่พบได้ในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma) สามารถแยกได้โดยการใช้ polyacrylamide gel เท่านั้นไม่สามารถแยกได้โดยการใช้ cellulose acetate ในการแยกด้วยไฟฟ้า

- Timberly<sup>(7)</sup> เป็นไอโซเอนซัยม์ที่พบในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งที่รังไข่ มะเร็งปอดพบว่าแถบของไอโซเอนซัยม์ที่ไม่สามารถพบได้ในคนปกติที่มีตำแหน่งอยู่ในช่วงนี้จะทับซ้อนกันเมื่อแยกด้วยไฟฟ้าทำให้ไม่สามารถแยกออกจากกันได้ มีชื่อเรียกรวมว่า neoplacental isoenzyme

3. แถบไอโซเอนซัยม์ที่ตำแหน่งตรงกับ serum alpha 2 globulin

ก. แถบที่สามารถพบได้ในคนปกติ

- Liver หรือ Major liver<sup>(11)</sup> เป็นไอโซเอนซัยม์ที่พบได้ในคนปกติ โดยระดับของไอโซเอนซัยม์นี้จะเพิ่มสูงขึ้นในผู้ป่วยที่มีโรคตับโดยจะเพิ่มสูงขึ้นก่อนที่จะตรวจพบความผิดปกติจาก liver function test อื่นๆ และมักจะพบขึ้นสูงรวมไปกับการมีระดับ Alkaline Phosphatase โดยรวมสูง สำหรับกลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับของไอโซเอนซัยม์ นี้สูงได้แก่ ตับอักเสบเฉียบพลัน (acute hepatitis) ตับแข็ง (liver cirrhosis) ไชมัน

สะสมที่ตับ (fatty liver) ตับอักเสบจากยา (drug induced hepatitis) การอุดตันของท่อน้ำดี (biliary tract obstruction) บางครั้งจะพบว่าแถบของไอโซเอนซัยม์นี้อาจไปทับกับแถบของไอโซเอนซัยม์ที่มีตำแหน่งอยู่ระหว่าง alpha 2 และ beta serum protein ได้ แต่สามารถแยกได้โดยเทียบจากตำแหน่ง

4. แถบไอโซเอนซัยม์ที่ตำแหน่งอยู่ระหว่าง alpha 1 และ alpha 2 serum protein

ก. ไอโซเอนซัยม์ที่สามารถพบได้ในคนปกติ

- Second bone<sup>(19)</sup> เป็นไอโซเอนซัยม์ที่พบได้เฉพาะในเด็กบางคน และ จะหายไปเองเมื่อเด็กมีอายุมากขึ้น การมีคงอยู่หรือการหายไปของไอโซเอนซัยม์นี้ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเด็ก

5. แถบไอโซเอนซัยม์ที่ตำแหน่งตรงกับ serum alpha 1 globulin

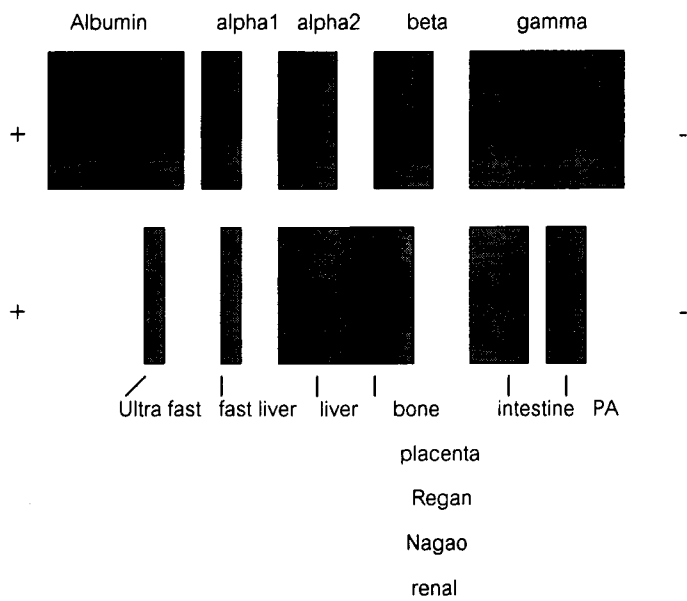
ก. แถบที่ไม่สามารถพบได้ในคนปกติ

- Fast liver หรือ Biliary<sup>(11,24-25)</sup> เป็นไอโซเอนซัยม์ที่พบในผู้ป่วยที่มีมะเร็งทิวติงกูมิของตับ (metastatic carcinoma of liver) ตับอักเสบจากไวรัส (viral hepatitis) ตับอักเสบจากแอลกอฮอล์ (alcoholic hepatitis) อย่างไรก็ตามยังมีรายงานการพบไอโซเอนซัยม์นี้ได้ของคนปกติ

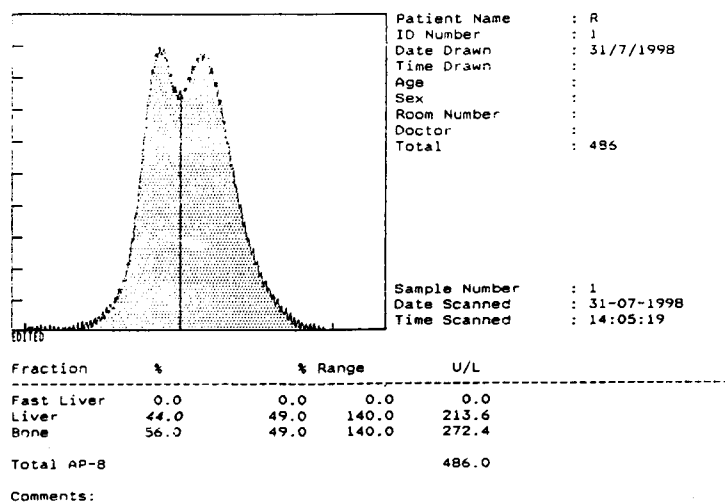
6. แถบไอโซเอนซัยม์ที่ตำแหน่งตรงกับ serum albumin

- Ultra fast<sup>(26)</sup> เป็น band ที่ยังไม่ได้รับการพิสูจน์ว่าเป็นไอโซเอนซัยม์ ที่แท้จริง อาจเกิดจาก สารประกอบเชิงซ้อนของ albumin และ bilirubin

พบว่าระดับไอโซเอนซัยม์ แต่ละชนิดจะมีค่าแตกต่างกันไปตามปัจจัยต่าง ๆ ทั้งที่เป็นปัจจัยทางสรีรวิทยา และปัจจัยทางพยาธิวิทยา ทั้งนี้พบว่าในเด็กและผู้ใหญ่ที่มีอายุมากกว่า 50 ปีจะมีค่าระดับไอโซเอนซัยม์ชนิด bone สูง ผู้ใหญ่ที่มีอายุน้อยกว่า 50 ปีจะมีค่าระดับไอโซเอนซัยม์ชนิด liver สูง ในผู้ที่ตั้งครรภ์จะมีค่าระดับไอโซเอนซัยม์ชนิด placenta สูง



รูปที่ 1. แสดงไอโซเอนซิมแถบของ Alkaline Phosphatase เมื่อเทียบกับ serum protein เมื่อแยกด้วยวิธีการแยกด้วยไฟฟ้า



รูปที่ 2. แสดงกราฟของไอโซเอนซิมของ Alkaline Phosphatase ในคนปกติที่ได้จาก densitometer

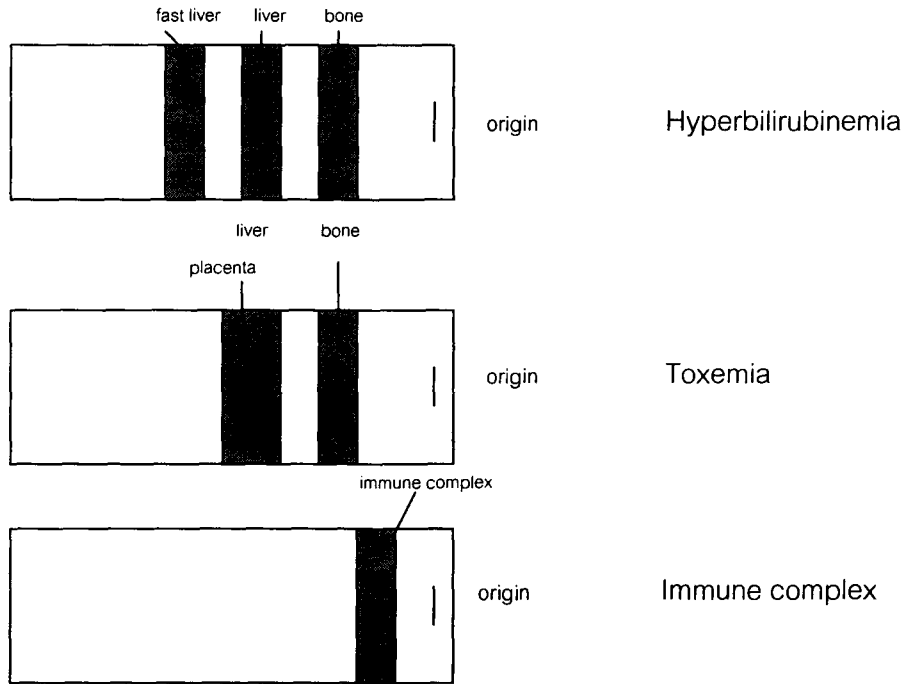
ตารางที่ 5. แสดงแถบ (band) ต่าง ๆ ของไอโซเอนซิมของ Alkaline Phosphatase ที่ได้จากการแยกด้วยไฟฟ้าเรียงจาก ด้านขั้วบวก (anode) ไปขั้วลบ (cathode)

ตำแหน่งเมื่อเทียบกับ (serum protein)	ไอโซเอนซิม
albumin	• Ultra fast
alpha 1	• Fast liver
alpha1/alpha2	• Second bone
alpha 2	• Liver
alpha 2/beta	• Bone,placenta, Regan, Nagao, Timberly, renal
gamma	• Intestine
	• PA(pancreatic)

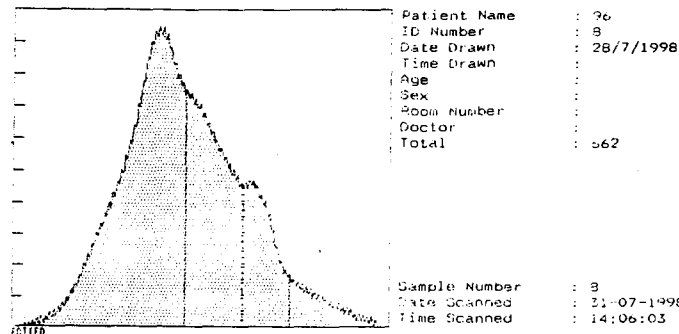
**การประยุกต์ประโยชน์จากการตรวจไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase**

เนื่องจากคุณสมบัติของไอโซเอนไซม์ดังกล่าวมาแล้วจึงมีการนำ Alkaline Phosphatase ไอโซเอนไซม์

มาประยุกต์ใช้ในทางคลินิกหลายประการ<sup>(27)</sup> เช่น การใช้เป็นเครื่องมือในการคัดกรองโรค การใช้เป็นเครื่องมือในการวินิจฉัยแยกโรค การใช้เป็นเครื่องมือในการติดตามผลการรักษาและพยากรณ์โรค (รูปที่ 3, 4)



รูปที่ 3. แสดงแถบของไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase ในบางสภาวะเมื่อแยกด้วยไฟฟ้า

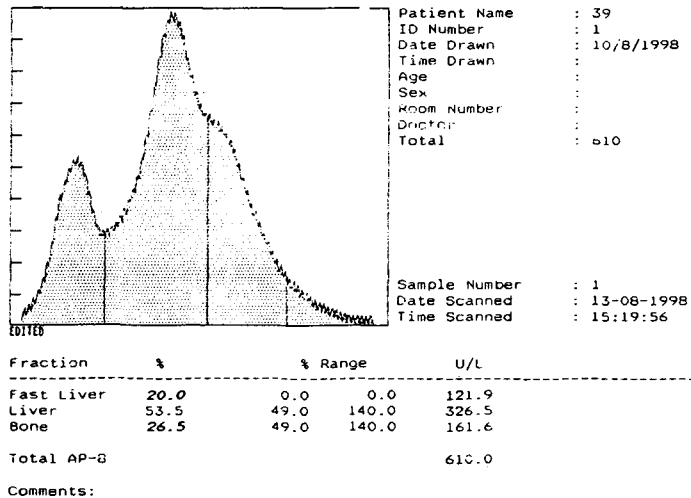


Fraction	%	% Range		U/L
Fast Liver	0.0	0.0	0.0	0.1
Liver	56.9	49.0	140.0	376.8
Bone	29.2	49.0	140.0	193.6
Intestine	13.8	0.0	28.0	91.6
Total 40-8				662.0

Comments:

Liver cirrhosis

รูปที่ 4. แสดงกราฟของไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase ในบางสภาวะที่ได้จาก densitometer



biliary obstruction

รูปที่ 4. แสดงกราฟของไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase ในบางสภาวะที่ได้จาก densitometer

ก. ในผู้ป่วยทางด้านมะเร็งวิทยา

มีการรายงานใช้ประโยชน์จากการตรวจหาไอโซเอนไซม์ของ Alkaline Phosphatase ในการตรวจวินิจฉัยและติดตามผลการรักษาตลอดจนการพยากรณ์โรคมะเร็งหลายรายงาน ในด้านการตรวจวินิจฉัยโรคนั้นมีการใช้ประโยชน์จากการตรวจหาไอโซเอนไซม์ในการตรวจวินิจฉัยมะเร็งทั้งชนิดปฐมภูมิและทุติยภูมิ การตรวจพบระดับเอนไซม์ Alkaline Phosphatase โดยรวมสูงขึ้นร่วมกับการตรวจพบไอโซเอนไซม์ซึ่งไม่สามารถพบได้ในคนปกติย่อมบ่งชี้ว่าอาจมีมะเร็งปฐมภูมิของอวัยวะใดอวัยวะหนึ่ง เช่น การตรวจพบไอโซเอนไซม์ในกลุ่ม Neoplacental อาจบ่งชี้ว่ามีโรคมะเร็งของเซลล์สืบพันธุ์ (germ cell tumor)<sup>(28)</sup> เป็นต้น ในทางกลับกันหากตรวจพบระดับเอนไซม์ Alkaline Phosphatase โดยรวมสูงขึ้นร่วมกับการตรวจพบการสูงขึ้นของไอโซเอนไซม์ที่สามารถพบได้ในคนปกติย่อมบ่งชี้ว่าอาจมีมะเร็งปฐมภูมิหรือมะเร็งทุติยภูมิ มีรายงานการตรวจการกระจายของมะเร็งจากที่ต่างๆเช่น เต้านม<sup>(29)</sup> ต่อมลูกหมาก<sup>(30)</sup> มาส์ติบ และ กระดูก โดยการคัดกรองโดยการตรวจหาระดับไอโซเอนไซม์ liver และ bone ที่สูง

ขึ้น โดยพบว่าการตรวจหาไอโซเอนไซม์มีประโยชน์ในการวินิจฉัยการแพร่กระจายของโรคไปที่อวัยวะต่าง ๆ โดยมีความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) สูงสำหรับในผู้ป่วย Hodgkin's lymphoma พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของระดับ Alkaline Phosphatase โดยพบว่าโรคมะเร็งเข้าสู่ระยะลุกลาม (advance stage) มากเท่าใดจะมีระดับของเอนไซม์นี้เพิ่มตามไปด้วย โดยไอโซเอนไซม์ที่จะพบสูงขึ้นได้แก่ liver และ bone โดยจะพบระดับไอโซเอนไซม์ liver เพิ่มขึ้นก่อนและจะพบเพิ่มขึ้นสูงในผู้ป่วยเกือบทุกราย<sup>(31)</sup>

ข. ในผู้ป่วยที่มีโรคเกี่ยวกับตับและทางเดินน้ำดี

ในผู้ป่วยที่ภาวะดีซ่านจากการอุดตันของทางเดินน้ำดีจะพบระดับเอนไซม์ Alkaline Phosphatase โดยรวมสูงขึ้นร่วมกับการสูงขึ้นอย่างมากของไอโซเอนไซม์ fast liver สำหรับไอโซเอนไซม์นี้นอกจากจะพบระดับสูงขึ้นในผู้ป่วยที่มีภาวะดีซ่านแล้ว ยังสามารถพบสูงขึ้นได้ในผู้ป่วยที่มีมะเร็งทุติยภูมิของตับ<sup>(11,24 - 25)</sup> ส่วนในผู้ป่วยเป็นโรคตับอักเสบจากสาเหตุต่าง ๆ จะพบว่าเอนไซม์ Alkaline Phosphatase โดยรวมสูงขึ้นร่วมกับการตรวจพบไอโซเอนไซม์ liver ที่สูงขึ้น<sup>(11)</sup>



### ค. ในผู้ป่วยที่มีโรคเกี่ยวกับกระดูก

พบว่าโรคกระดูกหลายโรคที่ทำให้มีระดับเอนซิม Alkaline phosphatase โดยรวมสูงขึ้นร่วมกับการสูงขึ้นของไอโซเอนซิม bone โรคเหล่านี้ได้แก่ โรคมะเร็งกระดูก (bone cancer) โรคกระดูกอ่อนสาเหตุจากไต (renal rickets) โรคกระดูกพรุน (osteoporosis) โดยพบว่าระดับไอโซเอนซิมสูงขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคที่เพิ่มขึ้นและยังสัมพันธ์กับระดับ Hydroxyproline ที่ตรวจพบในปัสสาวะ<sup>(19)</sup>

### ง. ในผู้ป่วยที่มีโรคเกี่ยวกับปอดและหัวใจ

ภายหลังจากการเริ่มต้นการตาย (infarction) ของกล้ามเนื้อหัวใจและเนื้อปอด 4 - 10 ชั่วโมงจะสามารถตรวจพบระดับเอนซิม Alkaline Phosphatase โดยรวมสูงขึ้น โดย ไอโซเอนซิมที่สูงขึ้นนั้นมาจากผนังของเส้นเลือด (endothelium) มีคุณสมบัติเหมือนไอโซเอนซิม bone ปัจจุบันมีรายงานการตรวจหาไอโซเอนซิมในน้ำล้างจากหลอดลมและถุงลม (bronchoalveolar lavage) โดยพบว่าในตัวอย่างจากผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งปอดจะพบระดับของไอโซเอนซิมชนิดหนึ่งสูงขึ้น ไอโซเอนซิมนี้มีคุณสมบัติคล้ายไอโซเอนซิม bone<sup>(32)</sup>

### จ. ในผู้ป่วยทางด้านสูติศาสตร์

ปัจจุบันมีรายงานการตรวจหาระดับของไอโซเอนซิมในน้ำคร่ำ (amniotic fluid) เพื่อตรวจคัดกรองโรค cystic fibrosis ของทารกในครรภ์<sup>(33)</sup>

### ฉ. ในผู้ป่วยทางด้านทันตกรรม

ในปัจจุบันพบว่ามีความเกี่ยวข้องของไอโซเอนซิมชนิด bone กับการเกิดโรคเหงือกอักเสบ (gingivitis)<sup>(34)</sup> และ ถุงน้ำรากฟัน (radicular cyst)<sup>(35)</sup>

### ช. ในผู้ป่วยที่มีโรคเกี่ยวกับต่อมไร้ท่อและการครองธาตุ (Metabolism)

มีการศึกษาพบว่า ในตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย hyperthyroidism พบว่ามีไอโซเอนซิมชนิด liver และ bone เพิ่มขึ้นโดยพบว่ามีระดับเพิ่มขึ้นทั้งสองชนิด 75 % พบมีไอโซเอนซิม liver เพิ่มขึ้นเพียง 15% พบมีไอโซเอนซิม bone เพิ่มขึ้นเพียง 15%<sup>(36)</sup>

นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาถึงการเพิ่มขึ้นของระดับ Alkaline Phosphatase โดยรวมชั่วคราวโดยไม่ทราบสาเหตุ (transient hyperphosphatasemia) ทั้งในทารก<sup>(37)</sup> และผู้ใหญ่<sup>(38)</sup> โดยจากการศึกษาไอโซเอนซิมของผู้ป่วยในกลุ่มนี้พบว่าไอโซเอนซิมชนิด bone เพิ่มขึ้น

### แนวโน้มในการตรวจหาไอโซเอนซิมของ Alkaline Phosphatase ในปัจจุบัน

ปัจจุบันการตรวจหาไอโซเอนซิมของ Alkaline Phosphatase จัดว่าเป็นการตรวจทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่มีประโยชน์ใช้กันอย่างแพร่หลาย มีการพัฒนาวิธีการใหม่เพื่อตรวจหลายวิธี เช่น การใช้วิธีทางพันธุกรรมศาสตร์<sup>(39)</sup> การใช้การตรวจด้วยวิธีการแยกด้วยไฟฟ้าแบบสองมิติ (two dimension electrophoresis) ด้วยวิธีการเหล่านี้ทำให้สามารถตรวจได้สะดวก รวดเร็ว และ ถูกต้องมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการตรวจหาระดับไอโซเอนซิม Alkaline Phosphatase ในสิ่งส่งตรวจอื่นนอกจากเลือดเช่น น้ำคร่ำ<sup>(33)</sup> น้ำล้างจากหลอดลมและถุงลม<sup>(32)</sup> น้ำที่สะสมอยู่ในช่องคอฟัน (gingival crevicular fluid)<sup>(34)</sup> เป็นต้นทำให้สามารถใช้ประโยชน์ในการตรวจวินิจฉัย คัดกรองโรค ตรวจติดตามผลการรักษา และ พยากรณ์โรคได้กว้างขวางขึ้น ถึงแม้ว่าจะมีวิธีการตรวจที่ทันสมัยหลายวิธีในปัจจุบันก็ตามแต่การตรวจหาไอโซเอนซิมของ Alkaline Phosphatase ยังคงได้รับการค้นคว้า วิจัย ปรับปรุงเพื่อคุณภาพที่ดีที่สุดอยู่เสมอ

### สรุป

การตรวจหาไอโซเอนซิมของ Alkaline Phosphatase เป็นการตรวจทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่ได้สะดวก ใช้เวลาไม่มาก และใช้เครื่องมือไม่ซับซ้อน และมีราคาต้นทุนในการตรวจไม่สูง สามารถใช้ประโยชน์ในการเป็นเครื่องมือในการตรวจวินิจฉัยและเป็นเครื่องมือในการติดตามผลการรักษาโรคได้ดี มีความจำเพาะและความไวสูง จึงจัดว่าเป็นการตรวจที่มีประโยชน์มาก

## อ้างอิง

1. Bishop ML. Enzymes. In: Bishop MOL, Dubent-Von Laufen JI, Fody EP, eds. Clinical Chemistry: Principles, Procedures, Correlations. 1<sup>st</sup> ed. Philadelphia: Lippincott, 1985: 205 - 40
2. Alan H, Wu B. Diagnostic enzymology. In: McClatchey KD, eds. Clinical Laboratory Medicine. 1<sup>st</sup> ed. Maryland: Williams & Wilkins, 1994: 259 - 86
3. Wallach J. Core blood analytes-alteration by diseases. In: Wallach J, ed. Interpretation of Diagnostic Tests. 5<sup>th</sup> ed. Boston: Little, Brown, 1992: 33 - 81
4. Moss DW. Enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Clinical Chemistry. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders, 1984: 735 - 896
5. Baker AL. Liver chemistry. In: Kaplowitz N, ed. Liver and Biliary Diseases. 2<sup>nd</sup> ed. Maryland: Williams & Wilkins, 1996 : 207 - 20
6. Baner JD. Enzymology. In: Baner JD, ed. Clinical Laboratory Method. 9<sup>th</sup> ed. Missouri: Mosby, 1982: 566 - 604
7. Fishman WH. Perspectives on alkaline phosphatase isoenzymes. Am J Med 1974 May; 56 (5): 617 - 650
8. O'carroll D, Staland BE, Steele BW, Burke MD. Chemical inhibition method for alkaline phosphatase isoenzymes in human serum. Am J Clin Pathol 1975 Apr; 63(4): 564 - 72
9. Rhone DP, Mizuno FM. Profiles of alkaline phosphatase isoenzymes in serum using cellulose acetate electrophoresis and organ specific inhibitor. Am J Clin Pathol 1973 Apr; 59(4): 531 - 41
10. Sundblad L, Wallin - Nelson M, Brohult J. Characterization of alkaline phosphatase isoenzymes in sera by agar gel electrophoresis. Clin Chim Acta 1973 May; 45(3): 219 - 23
11. Rhone DP, White FM, Gidaspow isoenzymes of liver alkaline phosphatase in serum of patients with hepatobiliary diseases. Clin Chem 1973 ; 19(10): 1142 - 47
12. Wolf PL. Clinical significance of an increased or decreased sera alkaline phosphatase level. Arch Pathol Lab Med 1978 Oct; 102(10): 497 - 501
13. Eastman JR. Serum alkaline phosphatase: normal values by sex and age. Clin Chem 1977 Sep; 23(9): 1769 - 70
14. Young DS, Pestaner LC, Gibberman V. Effects of drugs on clinical laboratory tests. Clin Chem 1975 Apr; 21(5): 1 - 432
15. Massion CG, Frankenfeld JK. Alkaline phosphatase: liability in fresh and frozen human serum and in lyophilized control material. Clin Chem 1972 Apr; 18(4): 366 - 73
16. Heil W, Koberstein R, Zawta B. Reference Range. In: Heil W, Koberstein R, Zawta B, eds. Reference Ranges for Adults and Children Pre-Analytical Considerations. 2<sup>nd</sup> ed. Mannheim: Boehringer, 1997 : 14 - 118
17. Cha CM, Mastrofrancesco B, Cha S, Randall HT. Electrophoretic patterns of alkaline phosphatase isoenzymes in human sera with abnormality high activity and an unusual band observed in sera of patients with pancreatic cancer. Clin Chem 1975 Jul; 26(3): 110-5
18. Buttery JE, Milner CR, Nenadovic P, Pannall PR.

- Detection of alkaline phosphatase/immunoglobulin complexes. *Clin Chem* 1980 Oct; 26(11): 1620 - 21
19. Stepan J. Relationship of the activity of the bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase to urinary hydroxyproline excretion in metabolic and neoplastic bone diseases. *Eur J Clin Invest* 1978 Jun; 8(1): 373 - 77
20. Messer RH. Heat - stable alkaline phosphatase as an index of placental function. *Am J Obstet Gynecol* 1967 Jun 15; 98(4): 459 - 65
21. Hajer M, Thomas N, De Boruier BM. Identification of placental alkaline phosphatase in human serum using polyacrylamide gel electrophoresis. *Clin Chim Acta* 1978 Aug; 87(3): 383 - 6
22. Kranc MC. Detection of renal isoenzymes of alkaline phosphatase in dialysis patients and its possible application to diagnosis of renal failure. *Clin Chem* 1978 ; 24 (6): 1012
23. Inglis NR, Guzek DT, Kirleys S, Green S, Fishman WH. Rapid electrophoretic microzone membrane technique for regan isoenzyme (placental type alkaline phosphatase) using a fluorogenic substrate. *Clin Chim Acta* 1971 Jul; 33(2): 1067 - 71
24. Lee LM, Kenny MA. Electrophoretic method for assessing the normal and pathological distribution of alkaline phosphatase isoenzymes in serum. *Clin Chem* 1975 Jul; 21(8): 1128 - 35
25. De Broe ME, Roels F, Nouwen EJ, Wieme RJ. Liver plasma membrane: the source of serum high molecular weight alkaline phosphatase. *Hepatology* 1985 Jan - Feb; 5(1): 118 - 28
26. Hardin E, Passey RB, Fuller JB. Artifactual alkaline phosphatase isoenzyme band caused by bilirubin, on cellulose acetate electropherograms. *Clin Chem* 1978 Jan ; 24(1): 178 - 9
27. Epstein E, Kiechle FL, Ariss JD, Zak B. The clinical use of alkaline phosphatase enzymes. *Clin Lab Med* 1986 Sep; 6(3): 491 - 505
28. Shek TW, Yuen St, Luk IS, Wong MP. Germ cell tumors as a diagnosis pitfall of metastatic cancer. *J Clin Pathol* 1996 Mar; 49(3): 223 - 5
29. Ritzke C, Stieber P, Untch M, Nagel D, Eiermann W, Fateh-Moghadam A, et al. Alakaline phosphatase isoenzymes a detection and follow up of breast cancer metastasis. *Anticancer Res* 1998 Mar; 18(2B): 1243 - 49
30. Lorente JA, Morote J, Raventos C, Encabo C, Valenzula H. Clinical efficacy of isoenzyme alkaline phosphatase and prostatic specific antigen in the diagnosis of bone metastasis in prostate Cancer. *J Urol* 1996 Apr; 155(4): 1348 - 51
31. Martinow AJ, Yuen K, Cooper IA, Matthews JP, Juneja S, Wolf M, Januszewicz H, Prince MH. Prognostic markers of disease activity in Hodgkin's disease. *Leuk Lymphoma* 1998 Apr; 29(3-4): 383 - 9
32. Miyanaga M, Sugimoto H, Komoda T, Nosjean O, Honma K, Nemoto K, Sato T. A variant alkaline phosphatase detection in a patients with lung cancer. *Enzyme Protein* 1996; 49(5 - 6): 313 - 20
33. Sembaj A, Carriazo C, Sanz E, Moreno-Barral J. Determination of alkaline phosphatase isoenzyme in amniotic fluid. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995 May; 33(5): 281 - 4

34. Chapple IL, Socransky SS, Dibant S, Glenwright HD, Matthews JB. Chemiluminescent assay of alkaline phosphatase in human gingival crevicular fluid: investigation with an experimental gingivitis model and studies on the source of the enzyme within crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 1996 Jun; 23 (6): 587 - 94
35. Zeechi - Orlandini S, Formigli L, Giannelli M, Martini M, Tonelli P, Brandi ML, Bergamini M. Radicular cysts are involved in the recruitment of osteoclast precursors. *J Oral Pathol Med* 1996 Jul; 25(6): 325 - 30
36. Rhone DP, Berlinger FG, White FM. Tissue sources of elevated serum alkaline phosphatase activity in hyperthyroid patients. *Am J Clin Pathol* 1980 Oct; 74(4): 381 - 6
37. Posen S, Lee C, Vines R, Kilham H, Latham S, Keefe JF. Transient hyperphosphatasemia of infancy-an insufficiently recognized syndrome. *Clin Chem* 1997 Feb; 23(2 PT 1): 292 - 6
38. Schambeck CM, Kopp A, Mora-Maza G, Keller F. Transient alkaline hyperphosphatasemia in an adult: biochemical peculiarities. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997 Jun; 35(6) : 441 - 4
39. Schar BK, Otto VI, Hanseler E. Simultaneous detection of all forms of alkaline phosphatase isoenzymes in human germ cell tumors using reverse transcriptase - PCR. *Cancer Res* 1997 Sep1; 57(17) : 3841 - 6