

Electroforesis de isoenzimas de fosfatasa alcalina: utilidad diagnóstica en pacientes con enfermedad de células falciformes

Alkaline phosphatase isoenzyme electrophoresis: diagnostic utility in patients with sickle cell disease

Maydelin Miguel Morales^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-2992-1447>

Olga Margarita Agramonte Llanes¹ <https://orcid.org/0000-0003-0880-9149>

Yadira Tamayo Rodríguez¹ <https://orcid.org/0000-0002-2416-809X>

Rosa María Lam Díaz¹ <http://orcid.org/0000-0002-9909-3862>

Maydí Fundora Cedeño¹ <https://orcid.org/0000-0003-1034-0239>

Mariela Forrellat Barrios¹ <https://orcid.org/0000-0002-1590-9191>

¹Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: rchematologia@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Las fosfatasas alcalinas (FAL) humanas son indicadores enzimáticos de daño de órganos. Las complicaciones de la drepanocitosis incluyen lesión de órganos debido a la reperfusión, la vasculopatía proliferativa y la anemia hemolítica.

Objetivo: Demostrar la utilidad de la determinación de la actividad enzimática de la FAL y la movilidad electroforética de las isoenzimas séricas de FAL en pacientes con drepanocitosis en estado basal y durante las crisis.

Métodos: Estudio descriptivo, longitudinal, prospectivo en 85 individuos adultos, 25 controles sanos y 60 pacientes, entre enero y diciembre/2018. Variables estudiadas: genotipos (SS/Sβ⁰, SC/Sβ⁺), edad, sexo, actividad de FAL e isoenzimas por electroforesis en gel de agarosa con y sin lectina: hepática 1 (H1) y (H2); placenta 1(P1), ósea, intestinales 1, 2, 3 (I1.2.3) en estado basal y crisis.

Resultados: La actividad de la FAL fue significativamente mayor en los pacientes que en los controles. Hubo diferencias significativas en la actividad de la FAL y de la fracción H1+P1/1 de pacientes en estado basal en relación con el grupo control. La actividad de la enzima y las

isoenzimas no mostró diferencias significativas entre los genotipos. Igual comportamiento se observó en la actividad de las enzimas e isoenzimas durante las crisis vasoclusivas dolorosas y hepáticas. Se encontraron diferencias significativas en la actividad de la fracción hepática H1+P1/1 entre los grupos de 20-29 y 40-49 años

Conclusiones: La determinación de la FAL en los pacientes con drepanocitosis es útil y permite establecer un perfil isoenzimático personalizado, con importancia pronóstica como un marcador biológico de alarma.

Palabras clave: drepanocitosis; fosfatasa alcalina; isoenzimas; electroforesis.

ABSTRACT

Introduction: Human alkaline phosphatases (ALP) are enzymatic indicators of organ damage. Complications of sickle cell disease include injury to organs due to reperfusion injury, proliferative vascular disease, and hemolytic anemia.

Objective: To demonstrate the usefulness of determining ALP activity and the electrophoretic mobility of the serum ALP isoenzymes in patients with sickle cell disease at base line and during the crises.

Methods: A descriptive, longitudinal, prospective study was carried out in 85 adult individuals, 25 healthy controls and 60 patients, between January and December/2018. Studied variables: genotypes (SS/SβO, SC/Sβ+), age, sex, ALP activity and isoenzymes by agarose gel electrophoresis with and without lectin: hepatic 1 (H1) and (H2); placenta 1 (P1), bone, intestinal 1, 2, 3 (I1.2.3) in basal state and crisis.

Results: ALP activity was significantly higher in patients than in controls. Significant differences were found in the activity of the ALP and fraction H1+P1/1 of patients in basal state in relation to the control group. The activity of the enzyme and the isoenzymes showed no significant differences between genotypes. The same behavior was observed in the activity of enzymes and isoenzymes during painful and liver vasoocclusive crises. Significant differences were found in the activity of the liver fraction H1+P1/1 between the groups of 20-29 and 40-49 years.

Conclusions: The determination of the ALP in patients with sickle cell disease is useful and allows to establish a personalized isoenzymatic profile, with prognostic importance as a biological alarm marker.

Keywords: sickle cell disease; alkaline phosphatase; isoenzymes; electrophoresis.

Recibido: 04/04/2022

Aceptado: 06/06/2022

Introducción

La fosfatasa alcalina (FAL) humanas constituyen un sistema de múltiples formas moleculares de enzimas cuya heterogeneidad se debe a factores genéticos y a modificaciones postransduccionales. Se encuentran en todos los tejidos corporales, lo que determina el nombre de cada tipo, cuya estructura química es diferente, según el lugar del cuerpo donde se produce.⁽¹⁾

Las FAL humanas son indicadores enzimáticos de daño en osteoblasto, hígado, hueso, intestinos, placenta y riñón. Hay 4 genes que codifican FAL: un gen FAL no específico de tejido localizado en 1p36.12 que se expresa en osteoblastos, hepatocitos, los riñones y la placenta temprana, y los otros 3 tejidos específicos de FAL ubicados en 2q37 y expresados principalmente en el intestino, placenta y células germinales.⁽²⁾

Las ventajas diagnósticas del análisis de isoenzimas de la FAL radican en que se realizan por métodos semicuantitativos, como la electroforesis en geles de agarosa.^(3,4) La importancia de la medición de la FAL en el suero no ha disminuido durante medio siglo transcurrido desde su introducción en enzimología de diagnóstico; de hecho, el crecimiento del perfil bioquímico multiparamétrico ha consolidado su posición entre las pruebas realizadas con más frecuencia en química clínica, como un biomarcador de numerosos trastornos y complicaciones que sufren los pacientes con drepanocitosis.⁽⁵⁾

Las complicaciones de esta enfermedad incluyen lesión en los órganos diana debido al daño por reperfusión, la vasculopatía proliferativa y la anemia hemolítica. El evento primario en la fisiopatología de la drepanocitosis es la polimerización de la HbS en estado desoxigenado, con la formación de un gel extremadamente viscoso, que distorsiona al hematíe y disminuye su flexibilidad, lo que produce una anemia hemolítica crónica. Los glóbulos rojos con HbS obstruyen los pequeños capilares en la microcirculación y ocasionan una oxigenación deficiente de los tejidos, con el consiguiente daño orgánico.⁽⁶⁾

La gravedad del cuadro clínico en la drepanocitosis es variable entre un paciente y otro, incluso en un mismo paciente en diferentes etapas de la vida lo que influye en la morbilidad. Los episodios repetidos de oclusión vascular pueden producir infartos en huesos, músculos, pulmones, bazo y otros órganos.⁽⁶⁾

En general, el cuadro hematológico en los pacientes con drepanocitosis y el aumento de algunas pruebas de laboratorio como la FAL, que miden la función hepática, ósea, renal, placenta e intestino, puede ser la expresión de una lesión precoz de esos órganos, cuyo estudio más profundo podría permitir alguna intervención terapéutica para prevenir o detener su evolución, como sucede con la FAL.^(7,8,9) Un resultado del examen de FAL elevado, se realiza el estudio

electroforético de isoenzimas de la FAL, el cual orientara en el posible diagnóstico de una forma más específica.⁽¹⁰⁾

Los niveles de FAL superiores a los normales, que causan elevación de FAL de origen hepático pueden dividirse en enfermedades colestásicas extra- e intrahepáticas, y enfermedades infiltrativas.^(11,12)

Existen otras causas que están relacionada con el aumento de la actividad de la FAL asociadas a enfermedades hepáticas, como la colecistitis, hepatitis A, hepatitis B, colestasis, colangitis, cirrosis, enfermedades renales, debilidad de los huesos debido a la deficiencia de vitamina D o calcio.⁽¹³⁾ Fuera del embarazo, el incremento de los valores de FAL placentaria en suero pueden obedecer a la secreción de un tumor, pero rara vez aumenta el nivel sérico total. La FAL de origen placentario explica algunas complicaciones del embarazo tales como la hipertensión, pre eclampsia y amenaza de aborto, que suelen ir acompañadas de un aumento de la concentración sérica de las isoenzimas placentarias.⁽¹⁴⁾

La alteración de los niveles séricos de las isoenzimas FAL mediante la electroforesis nos orienta sobre el diagnóstico de la enfermedad que sospechemos ante la clínica del paciente gracias a su especificidad. Las isoenzimas hepáticas y óseas son inducidas solo por glicosilación o por modificaciones postraduccionales, por tanto son bastantes parecidas y se deben separar con un tratamiento especial.⁽¹⁶⁾ El objetivo de esta investigación fue demostrar la utilidad de la determinación de la actividad enzimática de la FAL y la movilidad electroforética de las isoenzimas séricas de FAL en pacientes con drepanocitosis en estado basal y durante las crisis.

Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, longitudinal, prospectivo en 85 individuos, 25 controles sanos y 60 pacientes con drepanocitosis (48 con genotipo SS/Sβ⁰ y 12 con SC/Sβ⁺), 37 femeninos y 23 masculinos atendidos en el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) entre enero y diciembre 2018. La edad promedio fue de 41.6 años con un rango de 18-70 años de edad. Se realizó una revisión de las historias clínica, para recoger la información de los estudios de laboratorio, así como la evolución hematológica y clínica durante la investigación.

La actividad enzimática de la FAL se midió en un analizador químico INLAB240 mediante técnica turbidimétrica. Posteriormente se realizó electroforesis de las isoenzimas en geles de agarosa a pH alcalino en el equipo Hydrasys.

Las variables estudiadas fueron: genotipos (SS/Sβ^o, SC/Sβ⁺), edad, sexo, actividad de FAL sérica, movilidad electroforética de isoenzimas con lectina, identificadas como hepática1 (H1) sin lectina identificadas como (H2); placenta 1(P1), ósea (B), intestinales (I1.I2.I3) en 41 pacientes en estado basal y 19 pacientes en crisis.

Como medidas de resumen se emplearon la media y la desviación estándar para las variables cuantitativas y para las cualitativas, se utilizaron las frecuencias absolutas y los porcentajes. Se consideró significativo, todo valor de $p < 0,05$ para el estadígrafo asociado a la prueba. Se solicitó a cada paciente la firma del consentimiento para participar en el estudio según los principios básicos de la Declaración de *Helsinki*, que contiene las recomendaciones a seguir en la investigación biomédica en seres humanos.^(17,18)

Resultados

Se encontró una actividad de FAL en las mujeres (622,09 UI/L), significativamente mayor que en los controles (124,27 UI/L) ($p=0,000$), así como en las fracciones de isoenzimas H1+P1/1 y Ósea/1 tratadas con lectina con respecto al grupo control ($p=0,000$), ($p=0,029$), respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1 - Resultados de actividad de la fosfatasa alcalina e isoenzimas en pacientes y controles del sexo femenino

Enzima	Controles (n=11)		Pacientes (n=51)		p
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	
FAL	124,27	21,564	622,09	356,821	0,000*
H1+P1/1	29,151	9,2371	47,382	15,9000	0,000*
H1+P1+O/2	76,791	7,7754	73,843	14,8867	0,528
Ósea/1	30,745	10,3910	41,747	26,7261	0,029*
I1+I2+I3/1	10,009	6,9551	5,433	2,6645	0,056
Hepat2/1	14,727	7,6444	16,684	8,6036	0,489

FAL: fosfatasa alcalina; **H1+P1/1:** (hepática 1+Placenta 1 con lectina (1); **H1+P1+O/2:** hepática +placenta sin lectina (2); **Ósea/1:** Ósea/1 con lectina; **I1+I2+I3** intestinales; **Hepat2/1:** Hepática 2 con lectina

La actividad de FAL en los pacientes masculinos (448,99 UI/L) fue significativamente mayor que en los controles del mismo sexo (145,71UI/L), así como en las fracciones de isoenzimas H1+P1/1 tratada con lectina y H1+P1+O/2 sin lectina, respectivamente (Tabla 2).

Tabla 2 - Resultados de actividad de FAL e isoenzimas en pacientes y controles del sexo masculino

Enzima	Controles (n=14)		Pacientes (n=9)		p
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	
FAL	145,71	38,239	448,99	179,225	0,001*
H1+P1/1	45,136	10,8069	25,144	11,4063	0,000*
H1+P1+O/2	80,286	7 4093	65,344	18,9781	0,049*
Oséa/1	33,664	10,8575	45,189	24,7758	0,217
I1+I2+I3/1	4,786	2,5428	5,567	2,2544	0,462
Hepat2/1	14,707	7,7067	22,209	14,0045	0,111

FAL: fosfatasa alcalina; **H1+P1/1:** hepática 1+Placenta 1 con lectina (1); **H1+P1+O/2:** hepática +placenta sin lectina Ósea/2; **Oséa/1:** Ósea/1 con lectina; **I1+I2+I3** intestinales; **Hepat2/1:** Hepática 2 con lectina

Se encontraron diferencias significativas en la actividad de la FAL y de la fracción H1+P1/1 de pacientes en estado basal en relación con el grupo control. La actividad de la enzima y las isoenzimas no mostró diferencias significativas entre los genotipos (Tabla 3).

Tabla 3 - Resultados de actividad de FAL e isoenzimas en pacientes según genotipo en estado basal

Enzima	Pacientes en estado basal (n=41)				Controles (n=25)		p
	Genotipo SS/Sβ ^o (n=35)		Genotipo SC/Sβ ⁺ (n=6)		Media	Desviación estándar	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar			
FAL	529,24	258,74	635,50	89,87	136,28	33,22	0,000*
H1+P1/1	29,23	15,09	35,21	18,94	46,12	10,00	0,000*
H1+P1+O/2	72,17	13,12	70,78	16,49	78,74	7,61	0,079
Oséa/1	38,52	24,85	45,96	26,70	32,38	10,53	0,288
I1+I2+I3/1	5,360	1,89	4,933	2,30	7,08	5,53	0,174
Hepat2/1	15,671	7,64	18,56	12,77	14,71	7,51	0,581

FAL: fosfatasa alcalina; **H1+P1/1:** (hepática 1+Placenta 1 con lectina (1)); **H1+P1+O/2:** hepática +placenta sin lectina (2); **Oséa/1:** Ósea/1 con lectina; **I1+I2+I3** intestinales; **Hepat2/1:** hepática 2 con lectina

Igual comportamiento se observó en la actividad de las enzimas e isoenzimas durante las crisis vasoclusivas dolorosas y hepáticas, se encontraron diferencias significativas entre los pacientes y el grupo control en la FAL y las fracciones H1+P1/1 y ósea O/1(Tabla 4).

Tabla 4 - Resultados de actividad de FAL e isoenzimas en pacientes en crisis. (n=19)

Enzima	Pacientes en estado crisis(n=19)				Controles(n=25)		p
	Genotipo SS/Sβ ⁰ (n=13)		Genotipo SC/Sβ ⁺ (n=6)		Media	Desviación estándar	
	Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar			
FAL	790,54	555,76	525,67	168,52	136,28	33,22	0,000*
I-H1+P1/1	25,469	15,29	24,567	13,78	41,99	10,00	0,000*
I-H1+P1+O/2	77,315	18,13	66,367	23,66	78,74	7,61	0,079
I-Osúa/1	50,946	28,46	41,533	31,21	32,38	10,53	0,038*
I-I1+I2+I3/1	6,038	4,22	5,250	2,27	7,08	5,53	0,174
I-Hepat2/1	19,438	10,50	23,033	14,26	14,71	7,51	0,581

FAL: fosfatasa alcalina; **H1+P1/1**: (hepática 1+Placenta 1 con lectina (1)); **H1+P1+O/2**: hepática +placenta sin lectina (2); **Osúa/1**: Ósea/1 con lectina; **I1+I2+I3** intestinales; **Hepat2/1**: hepática 2 con lectina

En relación a los grupos de edades, se encontraron diferencias significativas en la actividad de la fracción hepática H1+P1/1 entre los grupos de 20-29 y 40-49 años (Tabla 5).

Tabla 5 - Comparación por grupos de edades en los pacientes

Actividad enzimática	Grupos de edades					p
	20-29(n=12)	30-39(n=16)	40-49(n=7)	50-59(n=16)	60 y más(n=9)	
FAL	675,83±505,40	531,93±189,95	555,17±191,25	641,88 ±416,06	554,49±245,46	0,79
H1+P1/1	23,03 ±10,59	26,21 ±15,75	45,71 ±16,40	28,43 ±15,15	26,91 ±12,49	0,02*
H1+P1+O/2	71,66 ±20,61	71,50 ±13,89	74,61 ±7,96	73,75 ±16,56	71,95 ±17,19	0,98
Ósea/1	44,20 ±28,85	43,44 ±29,21	30,82 ±26,72	43,53 ±25,10	44,22 ±22,29	0,83
I1+I2+I3	5,07± 3,36	5,15 ±2,20	5,31 ±1,38	6,27 ±2,93	5,13 ±2,31	0,70
Hepat2/1	19,34 ±15,62	19,43 ±8,60	16,44 ±4,92	15,32 ±5,60	16,37 ±10,56	0,73

FAL: fosfatasa alcalina; **H1+P1/1**: (hepática 1+Placenta 1 con lectina (1)); **H1+P1+O/2**: hepática +placenta sin lectina (2); **Osúa/1**: Ósea/1 con lectina; **I1+I2+I3** intestinales; **Hepat2/1**: hepática 2 con lectina.

Discusión

Pocos son los estudios sobre la actividad de la FAL y sus isoenzimas con relación a la drepanocitosis, en los que hubo predominio del genotipo SS/Sβ⁰,^(19,20) al igual que la investigación realizada.

La FAL ha sido ampliamente estudiada por diferentes metodologías, como el ensayo inmunoradiométrico de dos sitios (IRMA), especialmente útil, valioso y no invasivo.^(21,22,23,24,25)

En el presente estudio se utilizó el método de separación electroforética para medir la actividad de las diferentes isoenzimas según lo reportado en la literatura.⁽²⁶⁾

El valor promedio de FAL en esta investigación en el grupo control fueron ligeramente inferiores a los estudios de Ecuador (175,7 ± 1,134. UI/L), Venezuela (148 ± 39,5 UI/L), México (147 ± 43,7 UI/L,) y Perú (155 ± 41,15 UI/L),⁽²⁷⁾ con valores de referencia entre 100 – 290 UI/L,

intervalo en que se encuentra la media determinada en este estudio. Otras investigaciones comunican valores de referencia, pero en rangos similares a los obtenidos en la investigación como: 40 – 140 UI/L en adultos de Colombia; Chile 44 – 147 UI/L y la Federación Mexicana de Patología Clínica; para adultos hombres: 75 – 236 UI/L y mujeres de 62 – 232 UI/L.^(28,29)

La presente investigación coincide con *Chailurkit* y otros. en el aumento de los valores de FAL en las mujeres, no así en los varones; lo que sugiere que la formación y resorción ósea están estrechamente acopladas al género, la edad y la etapa puberal, en condiciones normales.⁽³⁰⁾

En la drepanocitosis se observa aumento de la actividad de la FAL en ambos sexos, que está en relación directa con los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad, que llevan a desarrollar osteopenia/osteoporosis debido a la expansión de la médula, o la osteosclerosis debido a la isquemia después de una crisis vasoclusiva.^(31,32) En esta investigación a pesar de la correspondencia en ambos sexos, se destaca más el sexo femenino sobre todo en los primeros años posteriores a la menopausia probablemente por la deficiencia estrogénica y por el uso de medicamentos antiinflamatorios y antidepresivos frecuentemente utilizados por las mujeres.

Se plantea que los niveles más altos de FAL pueden deberse a crisis vasoclusivas asociadas a los huesos en lugar de a la hepatopatía, al encontrar elevación significativa de la FAL en pacientes con drepanocitosis. El nivel de la FAL indica la gravedad del daño óseo y es una guía útil del progreso en el manejo de los dolores óseos en la drepanocitosis.^(33,34,35)

Los resultados de la electroforesis de isoenzimas de FAL mostraron un perfil caracterizado por: disminución de la isoenzima hepática tratada con lectina. En virtud de que el resultado para la esta isoenzima, puede estar relacionado con las dietas deficientes en proteínas o muy bajas en contenido calórico, anemias graves como déficit de vitamina B₁₂, zinc y magnesio, y la deficiencia grave de vitamina C, el cual se acompaña invariablemente de hipofosfatasia.^(37,38)

Aproximadamente 50 % de la actividad de esta enzima deriva del hígado, mientras que 50 % proviene del hueso. Toda esta relación está dada por que prácticamente en todos los órganos se pueden producir infartos por oclusión vascular aguda.⁽³⁹⁾

En la crisis hepática aguda, la hepatomegalia de instauración brusca, secuestro hepático y colestasis intrahepática, presentan una base fisiopatológicas común con falciformación intrahepática que determina vasoclusión y congestión de las sinusoides con isquemia tisular y conducen a alteraciones permanentes e irreversibles de los órganos como sucede con el hígado.⁽⁴⁰⁾ Otra de las complicaciones que elevan el valor de la FAL son las infecciones por virus de la hepatitis B y C, la hepatotoxicidad inducida por fármacos, todos estos eventos provocan un aumento de actividad de la FAL y la fracción hepática que confirman la sospecha clínica de dichos pacientes.^(40,41)

Los criterios físicos y bioquímicos identificaron la FAL ósea como la principal, fracción enzimática que aumenta durante las crisis sintomáticas en la drepanocitosis con una elevada incidencia de infecciones bacterianas, siendo la osteomielitis la segunda infección más frecuente en ellos. La hipoxia relativa existente en los sinusoides de la médula ósea predispone a la falciformación y a la adhesión de los hematíes y leucocitos con el endotelio, lo que origina múltiples infartos isquémicos de las trabéculas óseas y por tanto las crisis dolorosas. Estos infartos son más frecuentes en la columna vertebral, pelvis y huesos largos siendo el húmero, la tibia y fémur (en ese orden) los huesos largos más comúnmente afectados, sobre todo en su segmento distal.^(42,43)

El aumento de la isoenzima ósea, también está relacionado con la fragilidad ósea en la drepanocitosis debido al efecto de la deficiencia de vitamina D (VD) por la ingesta dietética deficiente de nutrientes formadores de huesos, y se presume la evidencia que sugiere que los niveles de vitamina D son altamente prevalentes entre las personas con drepanocitosis.⁽⁴⁴⁾ Además estudios recientes sugieren que la sobrecarga de hierro transfusional está asociada con una mayor actividad de los osteoclastos como ocurre en nuestra investigación.

Las diferencias significativas en la actividad de la isoenzima hepática 1+ placenta en los grupos de edades puede obedecer al daño hepático por causas endocrinas, tóxicas, crisis vasoclusivas dolorosas y enfermedades autoinmune como suelen presentar los pacientes con drepanocitosis,⁽⁴³⁾ mientras que en el grupo control no se encontraron diferencias significativas en la actividad total de la FAL ni con las diferentes isoenzimas de la FAL.

Las anomalías electroforéticas podrían detectarse incluso cuando los pacientes están asintomáticos. Los datos actuales sugieren que el nivel de FAL en suero puede ser un indicador del grado, frecuencia y persistencia de lesiones tisulares que ocurren en la drepanocitosis. Además, existe una concordancia entre la gravedad de la crisis, los niveles séricos de FAL y los patrones de isoenzimas, que demuestran la utilidad de la determinación de la actividad total de FAL en estos pacientes y un perfil isoenzimático característico para cada grupo de pacientes. Así como su importancia pronostica como un indicador de alarma en la drepanocitosis, ya que resulta primordial localizar el origen de la FAL y establecer un diagnóstico diferencial de órgano especificidad en el caso de un resultado de FAL elevado, y así pautar un tratamiento personalizado para cada paciente

Se recomienda la generalización del uso de este marcador en estudios relacionados con daño hepático, óseo y poli medicación de esta enfermedad y realizar el estudio en la embarazada como predictor del compromiso hepático.

Referencias bibliográficas

1. Ricós C, Iglesias N, García-Lario JV, Simón M, Cava F, Hernández A, *et al.* Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem*; 2007;44:343-52. DOI: <https://10.1258/000456307780945633>
2. Fernandez NJ, Kidney BA. Alkaline phosphatase: beyond the liver. *Vet Clin Pathol*; 2007;36(3):223-33. DOI: <https://10.1111/j.1939-165x.2007.tb00216.x>
3. Green MR, Sambrook J. Alkaline Phosphatase. *Cold Spring Harb Protoc*. 2020 Aug 3;2020(8):100768. DOI: <https://10.1101/pdb.top100768>
4. Han Y, Chen, J.; Li, Z.; Chen, H.; Qiu, H. Recent progress and prospects of alkaline phosphatase biosensor based on fluorescence strategy. *Biosens. Bioelectron*. 2020, 148, 111811. DOI: <https://10.1016/j.bios.2019.111811>
5. Siller, A.F.; Whyte, M.P. Alkaline Phosphatase: Discovery and Naming of Our Favorite Enzyme. *J. Bone Miner. Res*. 2018, 33,362–4. DOI: <https://10.1002/jbmr.3225>
6. Bun HF, Forget BG. Hemoglobin: Molecular, Genetics, and Clinical Aspects. Philadelphia: WB Saunders; 1986.
7. Kühn F, Duan R, Ilmer M, Wirth U, Adiliaghdam F, Schiergens TS, *et al.* [Targeting the Intestinal Barrier to Prevent Gut-Derived Inflammation and Disease: A Role for Intestinal Alkaline Phosphatase](#). *Visc Med*. 2021 Oct;37(5):383-93. DOI: <https://10.1159/000515910>
8. [Kravets I](#). Paget's Disease of Bone: Diagnosis and Treatment *Am J Med*. 2018 Nov;131(11):1298-1303. DOI: <https://10.1016/j.amjmed.2018.04.028>
9. Sanaa Kamal, Moheyeldeen Mohamed Naghib, Jamaan Al Zahrani, Huda Hassan, Karim Moawad, Omar Arrahman. [Influence of Nutrition on Disease Severity and Health-related Quality of Life in Adults with Sickle Cell Disease: A Prospective Study](#) *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2021;13(1): e2021007. DOI: <https://10.4084/MJHID.2021.007>
10. Zhao M, Gao Y, Ye S, Ding J, Wang A, Li P, Shi H. A light-up near-infrared probe with aggregation-induced emission characteristics for highly sensitive detection of alkaline phosphatase. *Analyst*. 2019 Sep 30. DOI: <https://10.1039/c9an01505a>
11. Pecker LH, Patel N, Creary S, Darbari A, Meier ER, Darbari DS, *et al.* Diverse manifestations of acute sickle cell hepatopathy in pediatric patients with sickle cell disease: A case series. *Pediatr Blood Cancer*. 2018 Aug;65(8):e27060. DOI: <https://10.1002/pbc.27060>

12. Soe HHK, Abas AB, Than NN, Ni H, Singh J, Said ARBM, *et al.* [Vitamin D supplementation for sickle cell disease.](#) Cochrane Database Syst Rev. 2020 May 28;5(5):CD010858. DOI: <https://10.1002/14651858>
13. Boettger PC¹, Knupp CL², Liles DK², Walker K². Vitamin D Deficiency in Adult Sickle Cell Patients. J Natl Med Assoc. 2017 Spring;109(1):36-43. DOI: <https://10.1016/j.jnma.2016.10.003>
14. Reiswich V, Gorbokon N, Luebke AM, Burandt E, Menz A, Kluth M, *et al.* [Pattern of placental alkaline phosphatase \(PLAP\) expression in human tumors: a tissue microarray study on 12,381 tumors.](#) J Pathol Clin Res. 2021 Nov;7(6):577-89. DOI: <https://10.1002/cjp2.237>
15. McTaggart MP, Rawson C, Lawrence D, Raney BS, Jaundrill L, Miller LA, *et al.* Identification of a macro-alkaline phosphatase complex bowel disease. Ann Clin Biochem. 2012; 49:405-7. DOI: <https://10.1258/acb.2011.011224>
16. Zhao M, Gao Y, Ye S, Ding J, Wang A, Li P, Shi H. A light-up near-infrared probe with aggregation-induced emission characteristics for highly sensitive detection of alkaline phosphatase. Analyst. 2019; 144(21):6262-9. DOI: <https://10.1039/c9an01505a>
17. Knight-Madden J, Lee K, Elana G, Elenga N, Marcheco-Teruel B, Keshi N, Etienne-Julan M, *et al.* [Newborn Screening for Sickle Cell Disease in the Caribbean: An Update of the Present Situation and of the Disease Prevalence.](#) Int J Neonatal Screen. 2019;5(1):5. DOI: <https://10.3390/ijns5010005>
18. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. JAMA 2013;310(20):2191-4.
19. Abdallah, E.A, Said R.N, Mosallam D.S, Moawad, E.M, Kamal N.M, Fathallah, M.G. Serial serum alkaline phosphatase as an early biomarker for osteopenia of prematurity. Medicine 2016, 95:e4837. DOI: <https://10.1097/MD.00000000000004837>
20. Mokhtar GM, Tantawy AA, Hamed AA, Adly AA, Ismail EA, Makkeyah SM. [Tartrate-Resistant Acid Phosphatase 5b in Young Patients With Sickle Cell Disease and Trait Siblings: Relation to Vasculopathy and Bone Mineral Density.](#) Clin Appl Thromb Hemost. 2017 Jan;23(1):64-71 DOI: <https://10.1177/1076029615594001>
21. Rosalki SB, Foo AY. [Two new methods for separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma.](#) Clin Chem. 1984 Jul;30(7):1182-6.
22. Balbaied T, Hogan A, Moore E. [Electrochemical Detection and Capillary Electrophoresis: Comparative Studies for Alkaline Phosphatase \(ALP\) Release from Living Cells.](#) Biosensors (Basel). 2020;10(8):95 DOI: <https://10.3390/bios10080095>

23. Qu FL, Pei H, Kong R, Zhu S, Xia L. Novel turn-on fluorescent detection of alkaline phosphatase based on green synthesized carbon dots and MnO₂ nanosheets. *Talanta*. 2017, 165:136–42. DOI: <https://10.1016/j.talanta.2016.11.051>
24. Balbaied T, Moore E. [Overview of Optical and Electrochemical Alkaline Phosphatase \(ALP\) Biosensors: Recent Approaches in Cells Culture Techniques.](#) *Biosensors* (Basel). 2019;23;9(3):102. DOI: <https://10.3390/bios9030102>
25. Zhang J, Lu X, Lei Y, Hou X, Wu P. [Exploring the tunable excitation of QDs to maximize the overlap with the absorber for inner filter effect-based phosphorescence sensing of alkaline phosphatase.](#) *Nanoscale*. 2017;9(40):15606-11. DOI: <https://10.1039/c7nr03673f>
26. Biaz A, Uwingabiye J, Benaissa E, Owusu EM, Idrissi SEM. Interference Rendering Capillary Electrophoresis of Serum Proteins Uninterpretable. *Clin Lab* 2019 Jan 1;65(1). DOI: <https://10.7754/Clin.Lab.2018.180634>
27. Ochoa Naula FS, Rosales Cárdenas BS. Fosfatasa alcalina sérica en personas de 23 a 42 años de la ciudad de Cuenca-Ecuador, 2009-2010. (Tesis para optar por el grado de Licenciado en Laboratorio Clínico) Cuenca;2011. [acceso 21/01/2022] <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/3857>
28. Cordero Gulá P; Verdugo Silva L. Apuntes de Bioquímica Humana Metabolismo intermediario. Cuenca: Universidad de Cuenca; 2006.
29. University of Rochester Medical Center. Rochester (NY): University of Rochester Medical Center; c2017. Health Encyclopedia: Alkaline Phosphate; [acceso 13/03/2017]; Disponible en: https://www.urmc.rochester.edu/encyclopedia/content.aspx?contenttypeid=167&contentid=alkaline_phosphatase
30. Chailurkit LO, Suthutvoravut U, Mahachoklertwattana P, Charoenkiatkul S, Rajatanavin R. Biochemical markers of bone formation in Thai children and adolescents. *Endocr Res*. 2005; 31(3):159-69.
31. Wu Q, Zhong ZM, Pan Y, Zeng JH, Zheng S, Zhu SY, *et al.* Advanced Oxidation Protein Products as a Novel Marker of Oxidative Stress in Postmenopausal Osteoporosis. *Med Sci Monit*. 2015;21:2428-32. DOI: <https://10.12659/MSM.894347>
32. Fung EB, Kawchak DA, Zemel BS, Rovner AJ, Ohene-Frempong K, Stallings VA. [Markers of bone turnover are associated with growth and development in young subjects with sickle cell anemia.](#) *Pediatr Blood Cancer*. 2008 Mar;50(3):620-3. DOI: <https://10.1002/pbc.21147>
33. Gandolfi M, Smania N, Vella A, Picelli A, Chirumbolo S. Assessed and Emerging Biomarkers in Stroke and Training-Mediated Stroke Recovery: State of the Art. *Neural Plast*. 2017;2017:1389475. DOI: <https://10.1155/2017/1389475>

34. Siller AF, Whyte MP. [Alkaline Phosphatase: Discovery and Naming of Our Favorite Enzyme](#). J Bone Miner Res. 2018 Feb;33(2):362-4. DOI: <https://10.1002/jbmr.3225>
35. Vimalraj S. [Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization](#). Gene. 2020;754:144855. DOI: <https://10.1016/j.gene.2020.144855>
36. Nolan VG, Nottage KA, Cole EW, Hankins JS, Gurney JG. Prevalence of vitamin D deficiency in sickle cell disease: a systematic review. PLoS One. 2015;0(3):e0119908. DOI: <https://10.1371/journal.pone.0119908>
37. Simon S, Resch H, Klaushofer K, Roschger P, Zwerina J, Kocijan R. Hypophosphatasia: From diagnosis to treatment. Curr Rheumatol Rep 2018; 20:69. DOI: <https://10.1007/s11926-018-0778-5>
38. Millán JL, Whyte MP. Alkaline phosphatase and hypophosphatasia. Calcif Tissue Int. 2016; 98:398-416. DOI: <https://10.1007/s00223-015-0079-1>
39. Shah R, Taborda C, Chawla S. Acute and chronic hepatobiliary manifestations of sickle cell disease: A review. World J Gastrointest Pathophysiol. 2017 Aug 15;8(3):108-16. DOI: <https://10.4291/wjgp.v8.i3.108>
40. Marcheco-Teruel B. Impacto del programa de prevención de anemia por hemáties falciformes en Cuba: 1982-2016. Anales de la Academia de Ciencias de Cuba. 2018 [acceso 31/01/2022]; 8 (1) Disponible en: <http://www.revistaccuba.cu/index.php/revacc/article/view/440>
41. Ham SY, Nam SB, Han DW, You AH, Lim WS, Song Y. Prognostic impact of preoperative serum alkaline phosphatase level on a composite of morbidity and mortality after thoracic endovascular aortic repair: A retrospective study. Medicine (Baltimore). 2019 Sep; 98(38):e17173. DOI: <https://10.1097/MD.00000000000017173>
42. Machín García S, Guerra Alfonso T, Svarch E, Espinosa Martínez E, Mesa Cuervo JR, Dorticós Balea E, *et al.* Morbiletalidad en pacientes adultos con drepanocitosis. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2004 Ago [acceso 23/12/2019]; 20(2): ISSN 0864-0289.
43. Rojas-Martínez A, CalderónE, Vidal MA, Arroyo F, García-Hernández R, Torres LM. Crisis drepanocítica y tratamiento del dolor Sickle cell crisis and treatment of pain. Rev Soc Esp Dolor. 2015;22(4): DOI: <https://dx.doi.org/10.4321/S1134-80462015000400004>
44. [Özge Eskiocak](#), [Müge Özsan Yılmaz](#), [Gül İlhan](#). Metabolic Bone Diseases in Sickle Cell Anemia Patients and Evaluation of Associated Factors. Am J Med Sci .2021 Jul 10;S0002-9629(21)00250-0. DOI: <https://10.1016/j.amjms.2021.07.002>

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Maydelin Miguel Morales.

Curación de datos: Maydelin Miguel Morales, Olga Margarita Agramonte Llanes, Yadira Tamayo Rodríguez, Maydí Fundora Cedeño.

Análisis formal: Maydelin Miguel Morales, Rosa María Lam Díaz, Mariela Forrellat Barrios.

Investigación: Maydelin Miguel Morales, Olga Margarita Agramonte Llanes, Yadira Tamayo Rodríguez, Rosa María Lam Díaz, Maydí Fundora Cedeño, Mariela Forrellat Barrios.

Metodología: Maydelin Miguel Morales.

Supervisión: Maydelin Miguel Morales, Olga Margarita Agramonte Llanes.

Validación: Maydelin Miguel Morales.

Visualización: Maydelin Miguel Morales, Mariela Forrellat Barrios.

Redacción – borrador original: Maydelin Miguel Morales.

Redacción – revisión y edición: Maydelin Miguel Morales, Mariela Forrellat Barrios.