

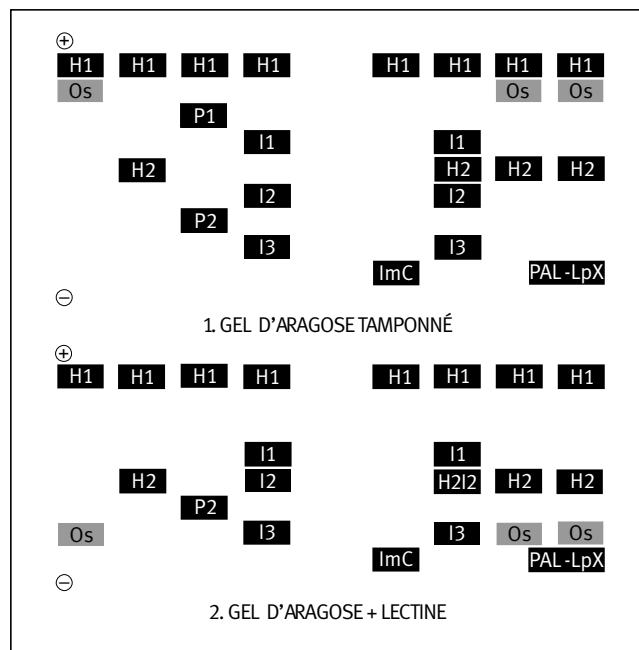
# Phosphatase alcaline (isoenzymes)

La phosphatase alcaline (*orthophosphoric monoester phosphorylase*, EC 3.1.3.1, PAL) est une enzyme dimérique de type métallo-glycoprotéique associée à divers hydrates de carbone et contenant quatre atomes de zinc par molécule. Sa masse relative est d'environ 170 kDa. Elle représente en fait un groupe de glycoprotéines de même activité, mais hétérogènes dans leur composition.

La PAL est une enzyme membranaire ubiquitaire, présente dans la plupart des tissus humains. Certains en sont particulièrement riches : foie, os, rein, épithélium intestinal, syncytiotrophoblaste placentaire, cellules épithéliales galactophores.

Physiologiquement, la PAL est dotée d'actions biochimiques non spécifiques : hydrolyse, à pH alcalin et en présence d'ions magnésium, d'esters mono- et pyrophosphoriques, transphosphorylation.

Figure 1. Séparation des principales isoenzymes de la PAL par électrophorèse sur gel d'agarose



H1 : fraction hépatique I

H2 : fraction hépatique II (*fast liver*, macrohépatique)

I1, I2, I3 : fractions intestinales

ImC : immunocomplexe ou macro PAL (IgA-PAL par exemple)

OS : fraction osseuse

PAL-LpX : complexe PAL-Lipoprotéine X

P1 : fraction placentaire I (forme majeure)

P2 : fraction placentaire II (forme mineure)

Les PAL, sériques et tissulaires, sont représentées sous différentes formes résultant de la coexistence d'isoenzymes vraies, porteuses d'une spécificité tissulaire et codées par trois gènes structurellement distincts, et d'isoenzymes issues du même gène qui subissent des modifications post-traductionnelles variables suivant leur tissu d'origine.

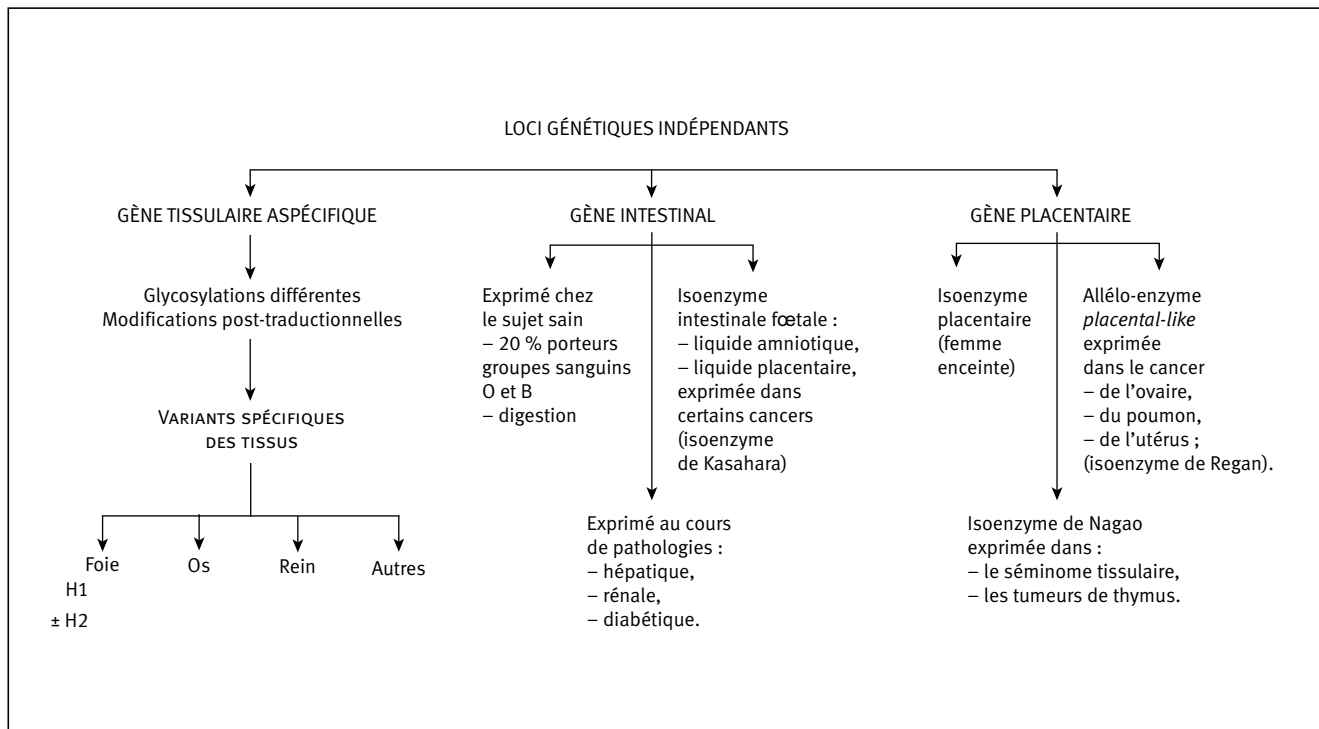
Au total, deux grands groupes d'isoenzymes sont individualisés :

- les isoenzymes « normales » (la présence de certaines d'entre elles étant inconstante). Seule la quantité augmentée ou diminuée peut faire suspecter une pathologie (osseuse, hépatique, intestinale ou placentaire) ;
- les isoenzymes « anormales », dont la présence signe toujours une pathologie : isoenzymes macromoléculaires, *placental-like* (Nagao et Regan), *intestinal foetal-like* (Kasahara) (figure 1).

La séparation des isoenzymes de la PAL est extrêmement délicate, surtout celle des fractions hépatiques et osseuses, de migration électrophorétique voisine quel que soit le support utilisé (gel d'acétate de cellulose, gel d'agarose). De nombreuses techniques ont été proposées, mais l'électrophorèse sur gel d'affinité constitue la méthode de choix (tableau 2, figure 2).

- Gène tissulaire aspécifique : situé sur le chromosome 1, il est exprimé par une grande variété de tissus. Les enzymes dérivées du produit de ce gène diffèrent par la nature de leur fraction glucidique, et notamment la proportion d'acide sialique. Les fractions H1 et Os sont habituellement présentes chez le sujet sain. La fraction H2, appelée aussi « fraction rapide hépatique », existe chez les individus sains, mais à des taux faibles.
- Gène intestinal :
  - adulte : il exprime une ou plusieurs isoformes glycoprotéiques, dépourvues d'acide sialique I1, I2, I3. Ces isoformes sont présentes dans le sérum de la plupart des individus, 2 heures après un repas, mais aussi à jeun chez 15 à 20 % de sujets alors dits sécréteurs (groupes sanguins B et O) ;
  - fœtal : il s'exprime dans l'intestin du fœtus jusqu'à la 32<sup>e</sup> semaine de grossesse. L'isoenzyme fœtale est composée de deux formes : intestinale, particulièrement intéressante chez les nouveau-nés atteints de mucoviscidose et les prématurés, et placentaire, anormalement exprimée chez l'adulte lors de cancers primitifs du foie (isoenzyme de Kasahara).
- Gène placentaire : localisé sur le chromosome 2, il possède un polymorphisme génétique à l'origine d'environ 18 formes alléliques différentes, normalement non exprimées chez l'adulte sain. Les isoenzymes placentaires, présentes dans le placenta du

Figure 2. Origine génétique des différentes isoenzymes des phosphatases alcalines humaines



4<sup>e</sup> mois de grossesse jusqu'au terme, comportent deux isoformes : majeure, P1 (80 %), et mineure, P2 (20 %). Des formes *placental-like*, résultant de mutations des isoformes normales, ont été décrites dans certains cancers (isoenzyme de Regan dans les cancers de l'ovaire, du poumon, de l'utérus, isoenzyme de Nagao dans ceux du testicule et du thymus).

La séparation et l'identification précise des principales isoenzymes de la PAL sont rendues possibles par la mise en œuvre simultanée de deux types de gel :

- un gel d'agarose tamponné à pH basique, qui permet d'identifier toutes les fractions à l'exception du bloc hépatique/osseux ;
- un gel d'agarose contenant la lectine, qui permet une séparation parfaite des fractions hépatiques et osseuses, du fait de sa forte affinité vis-à-vis de la forme osseuse, la plus riche en acide sialique.

Très résolutive, cette technique est aussi très sensible (activité PAL totale  $\geq 5$  à 10 U/l).

Chez l'adulte, l'activité PAL totale déterminée selon les normes IFCC est :

- chez la femme : < 105 U/l ;
- chez l'homme : < 115 U/l.

Cette activité est répartie comme suit entre les différentes isoenzymes : H1, 15 à 72 % ; H2, 1 à 14 % ; Os, 20 à 75 % ; I1 + I2 + I3, 0 à 14 %.

Des variations physiologiques de ces isoenzymes sont possibles en fonction de l'âge et de l'état hormonal chez la femme.


La fraction osseuse est prédominante chez les enfants, où elle atteint son niveau le plus élevé chez la fille de 9 à 10 ans, chez le garçon de 13 à 14 ans. Elle représente alors plus de 95 % des PAL totales. Elle diminue vers l'âge de 14 ans chez les filles et 16 ans chez les garçons. À l'âge adulte, elle est constante et légèrement plus élevée chez l'homme jusqu'à 50 ans.


La fraction hépatique H1 n'apparaît pas avant l'âge de 6 mois. Elle augmente progressivement pendant l'enfance en demeurant inférieure à 25 % des PAL totales jusqu'à la puberté. Elle atteint son taux maximal vers l'âge de 25 ans, représentant alors plus de 25 % des PAL totales.

L'expression des formes placentaires P1 et P2 se fait dès la 16<sup>e</sup> semaine de gestation. Leur concentration augmente progressivement jusqu'à 500 U/l au moment de l'accouchement, pour revenir ensuite à la normale en 3 à 6 jours. Très variables d'une femme à l'autre, les PAL ne constituent pas un marqueur fiable de la fonction placentaire pendant la grossesse.

À la ménopause, l'augmentation physiologique des PAL est essentiellement due à celle de la fraction osseuse.

L'étude des isoenzymes de la PAL s'avère hautement discriminante dans certaines pathologies humaines, notamment osseuses, hépatiques ou cancéreuses.

 *Phosphatase alcaline osseuse*

 Sotta C, Vernet M, Bied A.  
Les isoenzymes de la phosphatase alcaline.  
Lyon Pharmaceutique 1991 ; 42 : 23-30.

**Tableau 2. Isoenzymes de la phosphatase alcaline : applications cliniques**

Fractions	Augmentation	Association	Pathologies non cancéreuses	Pathologies cancéreuses
<b>Augmentation des fractions normalement présentes</b>				
Osseuses (Os)	↗ ↗		Maladie de Paget	
	↗ ↗ ↗	H1, H2		Tumeur primitive osseuse Métastases osseuses ostéoblastiques (cancer du sein, de la prostate)
	↗ ↗	I1	Hyperphosphatasémie bénigne de l'adulte	
	↗ ↗ ↗	H1	Hyperphosphatasémie transitoire de l'enfant	
	↗	H1	Hyperthyroïdie	
	↗	I1 – Complexe PLA-Ig	Insuffisance rénale	
	↗	H1	Cirrhoses, hépatites	
	↗	H1, H2		Métastases osseuses ostéolytiques
	↗		Ostéoporose, Ostéomalacie, Rachitisme, myélome	
Hépatiques (H)	↗ ↗	Os, H2, I1, I2	Cholestases Cirrhoses Hépatites virales Affections hépatobiliaires diverses (dont malformations)	Cancers (foie, tube digestif, poumons, lymphomes)
<b>Augmentation des fractions physiologiques à présence inconstante</b>				
Intestinales (I1)	↗ ↗ ↗	H1, H2, Os, I2, I3	Cirrhoses Pathologies du tube digestif	
		Complexes PAL-Ig	Diabète sucré	
	↗	Os, I2, I3, PAL-Ig	Hémodialysé (insuffisance rénale chronique)	
Placentaires	↗ ↗		Complications de la grossesse (HTA, éclampsie)	
<b>Présence de fractions anormales</b>				
<i>Placental-like</i> de Regan	Présence	H1, Os, H2		Cancer (ovaire, utérus, poumon)
<i>Placental-like</i> de Nagao	Présence			Séminomes testiculaires Tumeurs du thymus
Intestinales fœtale de Kasahara	Présence	H1, H2, Os		Cancer primitif du foie
Intestinales fœtales	↗ ↗		Prématuré (+ index Maturité pulmonaire fœtale)	
	↘ ↘		Mucoviscidose (dans le liquide amniotique)	
Hépatobiliaires H2	Présence	H1, Os, I1	Cirrhoses Ictères par obstacle sur les voies biliaires Hépatites virales	Cancer (foie, tube digestif) Métastases hépatiques (75 à 90 %)
Complexes PAL- lipoprotéine X	Présence	(H2)	Cholestase	
Complexes PAL-immunoglobines	Présence		Signification clinique incertaine	