

105  
2 E/14



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EVALUACION DE LA ISOENZIMA INTESTINAL DE LA  
FOSFATASA ALCALINA EN NIÑOS CON DIARREA.

T E S I S

RAUL LEONEL SOLIS CASTELLANOS

QUÍMICO - FARMACEÚTICO - BIÓLOGO

MEXICO, D. F.

1985



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## I N D I C E

|                         |           |
|-------------------------|-----------|
| ABREVIATURAS .....      | <u>6</u>  |
| INTRODUCCION .....      | <u>7</u>  |
| GENERALIDADES .....     | <u>10</u> |
| MATERIAL Y METODO ..... | <u>19</u> |
| RESULTADOS .....        | <u>27</u> |
| DISCUSION .....         | <u>36</u> |
| CONCLUSIONES .....      | <u>48</u> |
| RESUMEN .....           | <u>50</u> |
| BIBLIOGRAFIA .....      | <u>52</u> |

## ABREVIATURAS

FAI = fosfatasa alcalina intestinal

T 1/2 = tiempo de vida media

DEAE = dietil-amino-etil

T = transmisión

um/L = unidades del método/ litro

$\bar{X}$  = media aritmética

NC = no significativo estadísticamente

S = significativo estadísticamente

r = coeficiente de correlación

**I N T R O D U C C I O N**

La fosfatasa alcalina intestinal (FAI) se ha descrito tanto en humanos (1,2) como en animales de experimentación (3). Se ha relacionado estrechamente con la membrana luminal de las células epiteliales, así como con las membranas de las células endoteliales de los capilares situados en la lámina propia. -- También se ha informado que la actividad de la FAI es mayor en el yeyuno-ileon que en el colon (7:1), debido tal vez a la capacidad de absorción de estos dos órganos, ya que se acepta -- que la FAI es un índice de absorción y de transporte de sustancias a través de la membrana (3).

En algunos estudios se muestra que el nivel de las isoenzimas en el suero sanguíneo aumenta o disminuye cuando en los órganos donde se producen, existe alguna patología que induce alteraciones en el metabolismo o muerte celular. Así, el nivel de la fosfatasa alcalina ósea disminuye en la desnutrición (4) y se eleva en acromegalia (5); la fosfatasa alcalina hepática aumenta su actividad en los procesos inflamatorios y en las enfermedades infiltrativas de este órgano; la fosfatasa alcalina renal se incrementa cuando existe insuficiencia renal aguda y finalmente, se han descrito elevaciones de la FAI en el cáncer de colon y en padecimientos asociados con absorción intestinal deficiente (6).

Así mismo, otras enzimas como las transaminasas han sido encontradas elevadas en niños con diarrea viral (7), pero no existen datos sobre la actividad de la FAI del suero en niños con diarrea. Dado que en la fisiopatología de la diarrea la membrana celular epitelial juega un papel importante por interactuar con las bacterias enteropatógenas y/o con sus enterotoxinas, pudiendo ser destruida por lisis celular (8), podría esperarse una variación en los niveles de la FAI en el suero -

sanguíneo.

Según lo anterior, considerando el síndrome diarréico como una de las principales causas de mortalidad en México, la finalidad del presente trabajo es detectar si existen cambios en los niveles de actividad de la FAI en el suero sanguíneo de niños con diarrea.

El método a seleccionar para la medición de la FAI -- deberá ser más sensible y específico que los métodos tradicionales de inactivación de esta isoenzima y a la vez accesible a -- cualquier laboratorio clínico. Por lo tanto, pareció interesante enfocar el presente estudio a la medición de la FAI aprovechando su sensibilidad a la L-fenilalanina, adecuando esta metodología a las condiciones de la Clínica del Hospital General de Zona # 24 del I.M.S.S.

**GENERALIDADES**



Desde hace muchos años se ha reconocido la presencia, en varios tejidos animales, de enzimas que hidrolizan ésteres - de fosfato in vitro a pH alcalino. Además, los resultados de numerosos estudios sobre estas fosfatasas alcalinas han conducido a pensar sobre su posible origen intestinal o de otras fuentes. Hay evidencias de que en mujeres no embarazadas, la fosfatasa - alcalina del suero podría ser una mezcla de FAI modificada y no modificada post-traduccionalmente, donde las proporciones relativas están predeterminadas por factores genéticos y fisiológicos. En otros casos, el origen podría derivar principalmente -- del sistema hepato-biliar, del hueso, del intestino y placenta (este último en mujeres embarazadas).

La fosfatasa alcalina (fosfo-hidrolasa alcalina del - monoéster orto-fosfórico. E.C. 3.1.3.1.) es una glicoproteína, cuyo contenido de carbohidratos es tema de informes contradictorios (9). La FAI purificada, contiene hexosa y hexosamina en cantidades sustanciales, pero no ácido siálico; mientras que -- las fosfatasas alcalinas de otros tejidos tienen ácido siálico. En última instancia, las isoenzimas humanas (enzimas que existen en formas multimoleculares que tienen la misma actividad catalítica, pero difieren en sus propiedades fisicoquímicas) estructuralmente diferentes, aunque funcionalmente similares, surgen como resultado de variaciones en la cantidad de ácido siálico (9).

Por lo que respecta al contenido protéico, se ha encontrado en FAI y fosfatasa alcalina placentaria purificada, -- que contiene aproximadamente el 15% de nitrógeno (9) y además, se conoce la secuencia de aminoácidos de ambas enzimas. La hidrólisis de fosfatasas alcalinas de origen bacteriano, muestran estructura similar alrededor del centro activo, lo que sugiere una analogía tanto estructural como funcional con otras fosfoes

terases (10).

Recientemente, Komoda y Col. (11) caracterizaron a la FAI en base a sus propiedades químicas y enzimáticas, así como por el tiempo de vida media ( $T_{1/2}$ ). Estos investigadores concluyeron que existen dos formas de FAI humana, que se pueden purificar a partir de intestino delgado por medio de cromatografía en columna (DEAE-celulosa) y electroforesis en gel de poliacrilamida. Una enzima de movimiento lento con masa molecular de 168,000 y una enzima de movimiento rápido con masa molecular de 140,000. Ambas enzimas con subunidades con masa de 80,000 y de 68,000, respectivamente.

La distribución de enzimas marcadas con  $I^{125}$  en el organismo, indicó que la enzima hepática, sin ácido sílico, se distribuye selectivamente en hígado; mientras que la enzima intestinal desgalactosilada se incorpora tanto en hígado como en linfa e intestino delgado. Esto sugirió que la vía metabólica de eliminación de la fosfatasa alcalina tiene varias rutas.

La fosfatasa alcalina es una metalo-enzima que requiere de iones zinc y magnesio. El zinc mantiene enlazados los dos componentes que constituyen a la fosfatasa alcalina. La presencia de una deficiencia de zinc, acompañada por un nivel bajo en el suero está asociada con manifestaciones clínicas de deficiencias tales como diarrea, acrodermatitis enterohéptica con ligera lesión de la piel, retardo en el crecimiento y alopecia (12, 13).

Los niveles de fosfatasa alcalina del suero están disminuidos cuando se presenta una deficiencia severa de zinc, y retorna a su nivel normal cuando es corregida (14). Referente al magnesio, éste participa en el enlace de la enzima con el sustrato (15).

La ubicación celular de la fosfatasa alcalina se ha investigado mediante el fraccionamiento de componentes subcelulares por ultracentrifugación, y posteriormente examen citológico y microscopía electrónica. De estos resultados se puede -- concluir que la mayor actividad de la fosfatasa alcalina en la casi totalidad de células estudiadas, se localiza sobre la membrana plasmática. No obstante, en otros sitios intracelulares, tales como el núcleo y el aparato de Golgi, se ha demostrado -- también actividad enzimática, aunque en menor cantidad.

La asociación de la fosfatasa alcalina con membranas celulares se dedujo de la necesidad de utilizar butanol (16) o ultrasonido (17) para su extracción y solubilización; el empleo necesario de detergentes para solubilizar la enzima y efectuar un corrimiento electroforético en geles de poliacrilamida (18) y, finalmente de la naturaleza glicoproteica de la enzima (19). Estudios de fraccionamiento subcelular de varios tejidos de cultivos celulares (20) y varios órganos (21) revelaron que la mayor actividad enzimática se localiza en la fracción microsomal. En esta se encuentra una mezcla de vesículas derivadas de varios sistemas citomembranosos, incluyendo membrana plasmática, retículo endotelial rugoso y liso y el aparato de Golgi.

Con técnicas histoquímicas y microscopía electrónica se demostró actividad enzimática sobre las membranas de la microvellosidad de las células epiteliales de absorción de la mucosa intestinal. La reacción fue también intensa en el aparato de Golgi, en las cisternas del retículo liso y en los cuerpos densos (Fig. # 1). En secciones transversales de la microvellosidad se encontró que el producto de la reacción de la enzima estaba ubi- cado sobre la hoja externa de la doble membrana, aunque también apareció en menor grado en la hoja interna (22). Sandborn y Col.

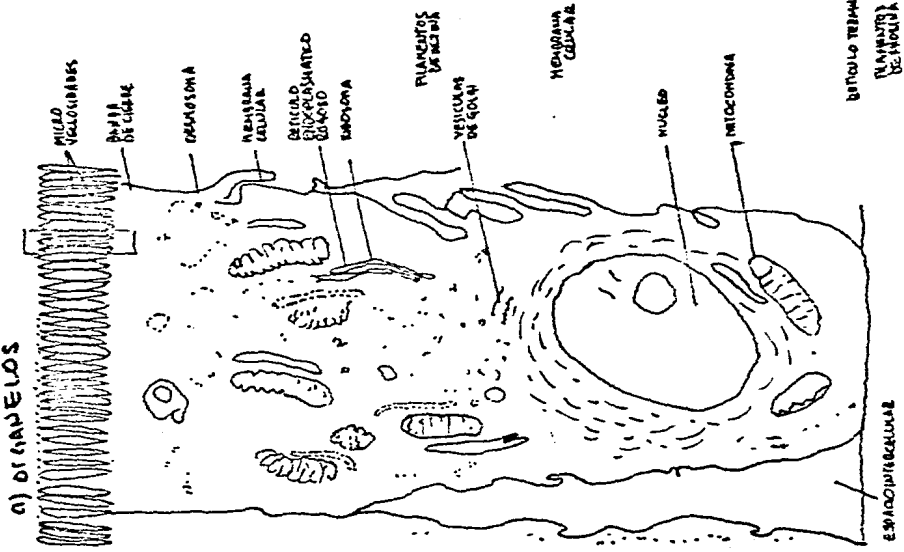
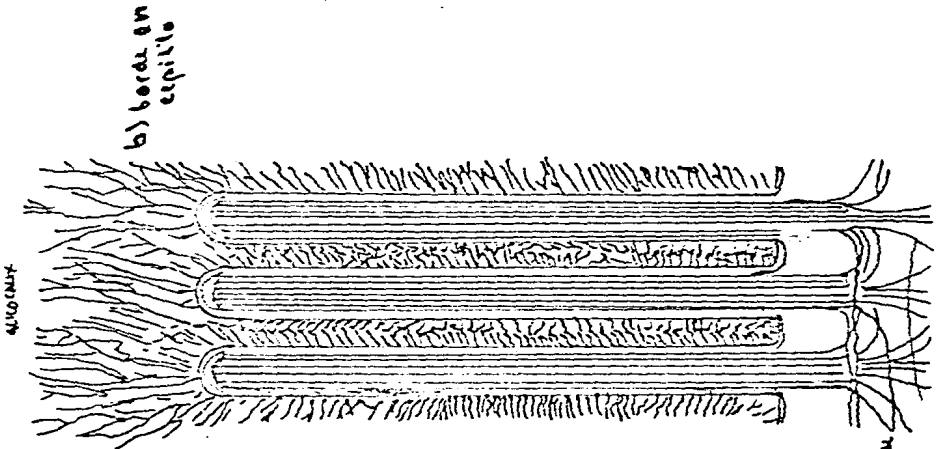


Fig No. 1. Estructura de la célula epitelial. Intestino delgado.

(23,24) demostraron también que en células epiteliales del intestino, la actividad enzimática está localizada sobre la membrana plasmática de las microvellosidades y sobre la membrana celular lateral, así como sobre las vesículas apicales o túbulos, cuerpos multivesiculares, el complejo de Golgi, lisosomas, retículo endoplásmico y membranas nucleares.

No se conoce la función precisa de la fosfatasa alcalina, no obstante, su localización en la membrana (Fig. # 2) sugiere fuertemente que pueda estar involucrada en las funciones de absorción y de transporte (25,26). El mecanismo de como la fosfatasa alcalina participa en los procesos fisiológicos de la membrana es también desconocido. Recientemente, Fishman y Lin (27) sugirieron que la fosfatasa alcalina junto con otras fosfohidrolasas y transferasas, pueden actuar en forma coordinada para regular las dimensiones de la membrana. Ahora bien, por su ubicación puede jugar un papel en relación al movimiento de moléculas a través de ellas.

Además de lo anotado, la fosfatasa alcalina no tiene función reconocible en el jugo intestinal, heces, leche, orina, bilis, suero y linfa. Su presencia es el resultado del vaciamiento de membranas ricas en fosfatasa alcalina en estos materiales.

A pesar de lo anterior, se sabe que la actividad de las isoenzimas de la fosfatasa alcalina, aumenta o disminuye en el suero sanguíneo cuando en los órganos donde se producen, existe alguna patología que lesione la membrana o bien ocasione lisis celular.

Fishman y Ghosh (28) y Fernley (29) revisaron el mecanismo de acción de la fosfatasa alcalina, indicando que ocurre en dos fases:

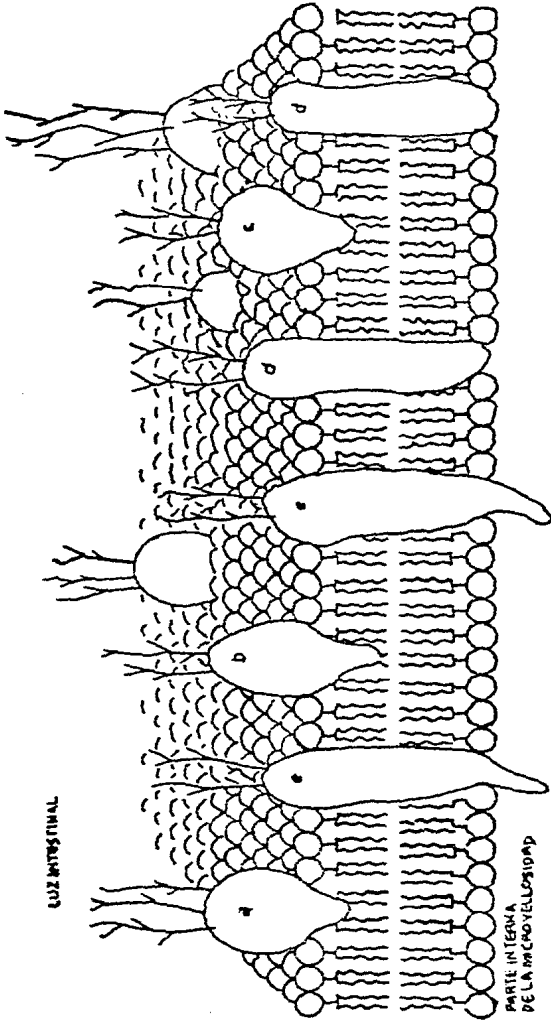


Fig No. 2.- Modelo propuesto de la disposición bioquímica de la membrana de células de absorción.

a, b, c - disacaridasas

d - Fosfatasa alcalina

e - Aminopeptidasas

1.- después de la formación del complejo enzima-sustrato, la hidrólisis del sustrato genera enzima-fosforilada + producto.

2.- la enzima fosforilada produce enzima + fosfato inorgánico:



Lazdunski (30) propuso un mecanismo de "ping-pong" para la acción de la fosfatasa alcalina de *Escherichia coli*. Según este autor, durante la reacción, los dos sitios de la enzima se alternan funcionalmente. La fosforilación ocurre primero en uno de los sitios activos y, el enlace del sustrato ocurre en el otro sitio.

La molécula de la enzima sufre el escalonamiento en "ping-pong", que incluye esencialmente la fosforilación simultánea de un sitio y la desfosforilación del otro. La liberación de la molécula orgánica conduce a la formación de la enzima fosforilada. En este escalonamiento "ping-pong" también se supone un cambio en la conformación de la molécula enzimática. Existen evidencias en apoyo de este mecanismo, que incluyen el antagonismo de los dos sitios de enlace y el intercambio de fosfato. Este mecanismo no sólo sugiere que las subunidades de la enzima actúan en forma dependiente, sino que también proporcionan una base teórica para su interacción.

La inactivación por el calor y la desnaturalización con urea, son técnicas que se han utilizado para diferenciar las isoenzimas de la fosfatasa alcalina. La inactivación por calor fue la primera técnica que se utilizó para identificar fosfatasa alcalina ósea. Posteriormente, se utilizó inactivación con urea (31,32).

Como se mencionó anteriormente, las diferencias de sensibilidad al calor puede ser usada para distinguir entre fosfata

sas alcalinas de hueso e hígado de las de intestino y placenta. La facilidad de la medición, contribuyó a que este método fuera uno de los más usados como herramienta en el análisis de isoenzimas de la fosfatasa alcalina en líquidos biológicos (31).

También se han realizado estudios sobre fosfatasa alcalina humana por medio de cromatografía (33) y electroforesis en gel de almidón (34,35), pero uno de los mayores avances en el estudio de isoenzimas de fosfatasa alcalina fue el descubrimiento de inhibidores específicos.

Un tema de investigaciones extensas ha sido la cinética de varios de estos inhibidores. Dichas cinéticas incluyen la inhibición de FAI humana y de rata por L-fenilalanina (36-38); la fosfatasa alcalina placentaria por L-triptofano (39) y por L-leucina (40,41) y, de fosfatasa alcalina de hueso e hígado -- por L-homoarginina, por imidazol y por levamisol (42-44). Dichos resultados han demostrado que todas estas inhibiciones son estereoespecíficas e incompetitivas.



MATERIAL Y METODO.

El material humano se integró con 135 niños del Servicio de Pediatría del Hospital General de Zona # 24 del I.M.S.S. Se obtuvieron 304 muestras, de las cuales 116 correspondieron a 59 niños hospitalizados por presentar síndrome diarreico y 188 muestras que correspondieron a 76 niños que asistieron al Servicio de Consulta Externa de Pediatría por presentar diferentes grados de desnutrición. Las edades de los niños estuvieron comprendidas entre 0.5 y 32 meses.

La selección de los pacientes se realizó al azar, de acuerdo al orden de ingreso a la sala, así como por orden de asistencia a la consulta, sin importar sexo ni condición nutricional; no obstante, fue indispensable que se encontraran sin complicaciones médicas de la diarrea, que el tiempo de evolución de ésta fuera menor de 10 días, y que se encontraran sin recibir medicamentos cuando menos 72 horas antes del estudio. Además, fueron excluidos aquellos pacientes que presentaron alguna evidencia clínica de anomalías genéticas.

Se determinaron las fosfatasa alcalinas total e intestinal cada tercer día en los niños hospitalizados por evolucionar con diarrea; el estudio se repitió ya como externos 15 días después de ser controlada la diarrea y posteriormente cada 30 días. A los niños de la Consulta Externa se les practicó el estudio cada 30 días.

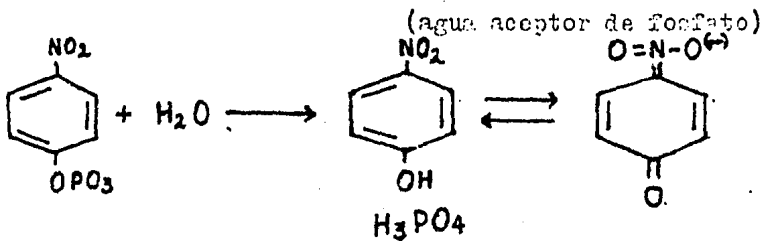
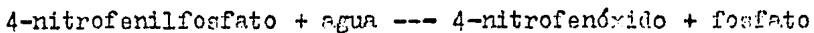
Para aceptar que un niño tenía diarrea se siguió el criterio establecido por Ramos Alvarez (45). Los pacientes diarreicos seleccionados fueron agrupados en eutróficos y desnutridos de acuerdo a las tablas de peso y talla del niño mexicano (46). Los desnutridos se clasificaron de acuerdo al criterio de Gómez (47) en desnutridos de primer grado, desnutridos de segundo grado y desnutridos de tercer grado.

Los grupos control estuvieron formados por niños que asistieron a la Consulta Externa de Pediatría por presentar diferentes grados de desnutrición, así como por los que presentaron diarrea, pero estudiados 15 días después de haber presentado el padecimiento. Estos grupos también fueron clasificados de acuerdo con el criterio de Gómez (47).

MÉTODOS:

Determinación de la fosfatasa alcalina total. Método de Bessey-Lowry-Brock modificado (48).

Fundamento: la fosfatasa alcalina hidroliza una gran variedad de ésteres orgánicos monofosforados con la formación de un alcohol o fenol y un ion fosfato. Los grupos fosfato son transferidos de un complejo enzima-fosfato hacia el agua y otros aceptores de fosfato presentes en el medio de reacción. Bajo las condiciones del método optimizado, la fosfatasa alcalina cataliza la reacción de transfosforilación:



Bajo las condiciones del pH usado en el procedimiento el 4-nitrofenilfosfato es esencialmente incoloro, mientras que el 4-nitrofenóxido tiene un intenso color amarillo.

Determinación de la fosfatasa alcalina intestinal. Método de --  
Bessey-Lowry-Brock-Fernley modificado (38,48).

Inhibición con L-fenilalanina. La selección de la L-fenilalanina como inhibidor de la FAI se debió a que en una concentración de  $5 \times 10^{-3}$  mol/L inhibe preferencialmente a la isoenzima intestinal en un 78%. Dicha inhibición es de tipo incompetitivo, en la cual el inhibidor reduce la concentración del complejo ES.

REACTIVOS:

Los reactivos que se utilizaron para la valoración de fosfatasa alcalina total y la FAI según el método de Bessey-Lowry-Brock modificado, fueron los utilizados rutinariamente en -- las clínicas del I.M.S.S. preparados por la misma institución, a excepción del amortiguador carbonato/bicarbonato y cloruro de magnesio, ya que Fernley ha informado que los amortiguadores como la glicina inhiben a la FAI (48).

- 1.- Solución amortiguadora carbonato/bicarbonato pH 10.3.
- 2.- Sustrato de 4-nitrofenilfosfato disódico (tableta 5 mg).
- 3.- Hidróxido de sodio 0.2 N.
- 4.- Hidróxido de sodio 0.02 N.
- 5.- Solución de 4-nitrofenol 10 mmol/L.
- 6.- Solución de 4-nitrofenol 0.05 mmol/L.
- 7.- Cloruro de magnesio  $4.9 \times 10^{-4}$  mol/L.

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES UTILIZADAS.

Preparar todas las soluciones en matraces aforados y con agua destilada.

- 1.- Solución amortiguadora carbonato/bicarbonato 0.1 mol/L, clo-

ruro de magnesio  $4.9 \times 10^{-4}$  mol/L. pH 10.3.

Disolver 0.318 g de carbonato de sodio y 0.168 g de bicarbonato de sodio en aproximadamente 20 ml de agua. Adicionar 4.75 mg de cloruro de magnesio, disolver completamente mezclando y aforar a 50 ml con agua. La solución es estable durante 3 meses cuando se almacena entre 2-6°C.

2.- Sustrato amortiguador pH 10.3.

Disolver una tableta de 4-nitrofenilfosfato disódico en 6 ml de agua destilada y adicionar 6 ml de solución amortiguadora pH 10.3.

3.- Sustrato-inhibidor-amortiguador pH 10.3.

Disolver una tableta de 4-nitrofenilfosfato disódico y 10 mg de L-fenilalanina en 6 ml de agua destilada y adicionar 6 ml de solución amortiguadora pH 10.3.

4.- Solución de 4-nitrofenol 0.05 mmol/L.

Medir con una pipeta volumétrica 5 ml de solución "stock" estándar y aforar en un matraz de 1000 ml.

5.- Solución de hidróxido de sodio 0.02 N.

Diluir 10 ml de la solución "stock" aforando a 100 ml con agua destilada.

MATERIAL Y APARATOS.

El material utilizado fue el habitual en cualquier laboratorio de Química Clínica.

Se usó un fotómetro Leitz modelo K para la medición de la transmisión a la longitud de onda de 405 nm.

HEMERA, ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO.

Colectar 5 ml de sangre por punción venosa y dejar coagular durante 20 minutos. El suero se obtiene por centrifuga

ción de la sangre coagulada por 10 minutos a 3,000 rpm. La muestra preferida es suero libre de hemólisis, pero también puede usarse plasma heparinizado. Deben evitarse los anticoagulantes complejantes como el citrato y EDTA y el precipitante oxalato - (49).

La actividad de la enzima es estable 7 días a 4°C --- (50).

TECNICA PARA LA DETERMINACION DE LA FOSFATASA ALCALINA TOTAL.

Marque 2 tubos con las letras B y P que corresponden a blanco y problema, respectivamente. Siga el siguiente cuadro:

|                    | Blanco             | Problema |
|--------------------|--------------------|----------|
| sustrato           | 1 ml               | 1 ml     |
| Incubar            | durante 30' a 37°C |          |
| agua               | 0.1 ml             |          |
| siero-<br>problema |                    | 0.1 ml   |
| Incubar            | durante 30' a 37°C |          |

Terminado el período de incubación, adicionar a cada uno de los tubos 10 ml de hidróxido de sodio 0.02 N y mezclar por inversión. Leer a una longitud de onda de 405 nm, llevando a 100% de T con el blanco. Anotar la lectura del problema.

Adicionar a cada uno de los tubos 2 gotas de ácido -- clorhídrico concentrado, mezclar por inversión. Volver a leer, ajustando a 100% de T con el blanco.

La actividad se calcula a partir de la curva de calibración graficada en %T vs Actividad (um/L). De la diferencia -

de las actividades correspondientes a la primera y segunda lectura, se calcula la actividad de la fosfatasa alcalina total.

### INHIBICION DE LA FAI.

Se determina indirectamente al valorar las fosfatasas alcalina no inhibidas, y por diferencia con la fosfatasa alcalina total se calcula el valor de la actividad de FAI.

### TECNICA:

Marcas 2 tubos con las letras B y P que corresponden a blanco y problema, respectivamente. Siga el siguiente cuadro:

|                | Blanco              | Problema |
|----------------|---------------------|----------|
| sustrato       |                     |          |
| inhibidor      | 1 ml                | 1 ml     |
| Incubar        | durante 30' a 37°C. |          |
| agua           | 0.1 ml              |          |
| suero problema |                     | 0.1 ml   |
| Incubar        | durante 30' a 37°C  |          |

Terminado el período de incubación, adicionar a cada uno de los tubos 10 ml de hidróxido de sodio 0.02 N y mezclar por inversión. Leer a una longitud de onda de 405 nm, llevando a 100% de T con el blanco. Anotar la lectura del problema.

Adicionar a cada uno de los tubos 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado, mezclar por inversión. Volver a leer, ajustando a 100% de T con el blanco.

De manera similar, la actividad se calcula a partir de la curva de calibración. De la diferencia de las actividades correspondientes a la primera y segunda lectura se calcula la actividad de las fosfatasas alcalinas no inhibidas.

Cuando se efectúa la determinación de la actividad de fosfatasa alcalina total y de fosfatasa alcalina no inhibida, - al mismo tiempo se determina la actividad de un suero control, el cual se obtiene de un "pool" de sueros preparado en el laboratorio, con el fin de llevar un control en las determinaciones.

La determinación de la actividad en el suero control se realiza de la misma forma que en un suero problema.

CALCULO DE LA ACTIVIDAD DE LA FAI.

$$\text{FOSFATASA ALCALINA TOTAL (um/L)} - \text{FOSFATASA ALCALINA NO INHIBIDA (um/L)} = \text{FAI (um/L)}.$$

Unidad enzimática (un) = es el número de mmol de 4-nitrofenol - liberado en la unidad de tiempo, a 37°C (unidad del método) en las condiciones de ensayo.

CURVA DE CALIBRACION.

| tubo | agua dest. ml | hidróxido de sodio 0.2 N ml | solución de 4-nitrofenol 0.05 mmol/L | unidades um/L |
|------|---------------|-----------------------------|--------------------------------------|---------------|
| 1    | 10            | 1.1                         | 0                                    | 0             |
| 2    | 8             | 1.1                         | 2                                    | 2             |
| 3    | 6             | 1.1                         | 4                                    | 4             |
| 4    | 4             | 1.1                         | 6                                    | 6             |
| 5    | 2             | 1.1                         | 8                                    | 8             |
| 6    | 0             | 1.1                         | 10                                   | 10            |

Llevar a 100% de T con el tubo # 1. Leer a 405 nm.



RESULTADOS.

En las tablas 1 y 2 se presentan los resultados de los niños con y sin diarrea agrupados de acuerdo a su condición nutricional.

En la tabla 1 la FAI en los niños eutróficos con diarrea mostró una  $\bar{x}=0.98$  um/L con límites de 0.3-2.3 um/L; en el grupo de desnutridos de primer grado ( $\bar{x}=0.81$  um/L) descendió 17.3% ( $p>0.1$ , NS); en el grupo de desnutridos de segundo grado ( $\bar{x}=0.85$  um/L) descendió 13.2% ( $p<0.001$ , S) y en el grupo de desnutridos de tercer grado ( $\bar{x}=0.65$  um/L) descendió 33% ( $p>0.01$ , S).

La actividad de la fosfatasa alcalina total en el grupo de los eutróficos presentó una  $\bar{x}=6.35$  um/L con límites de 3.0 a 11.6 um/L; la fosfatasa alcalina total en el grupo de desnutridos de primer grado ( $\bar{x}=5.30$  um/L) descendió 16.5% ( $p>0.01$ , S); en el grupo de desnutridos de segundo grado ( $\bar{x}=4.76$  um/L) descendió 25% ( $p<0.001$ , S) y finalmente, en el grupo de desnutridos de tercer grado ( $\bar{x}=4.12$  um/L) descendió 35% ( $p>0.001$ , S).

En la tabla 2 se presentan los datos de los niños sin diarrea. Como cifras de referencia se consideraron los valores de  $\bar{x}=5.48$  um/L con límites de 2.2 a 9.3 um/L para la fosfatasa alcalina total y  $\bar{x}=0.77$  um/L con límites de 0.4 a 1.5 um/L para la FAI. En relación a los valores mencionados, la FAI en el grupo de desnutridos de primer grado ( $\bar{x}=1.06$  um/L) elevó su actividad en 37.6% ( $p<0.025$ , S); en los desnutridos de segundo grado ( $\bar{x}=0.92$  um/L) elevó su actividad 19.4% ( $p>0.5$ , NS); y finalmente en el grupo de niños desnutridos de tercer grado elevó su actividad 7.7% ( $p>0.5$ , NS).

La fosfatasa alcalina total en el grupo de desnutridos de primer grado aumentó 9.4% ( $p>0.2$ , NS); en los de segundo grado aumentó 2.1% ( $p>0.05$ , NS) y descendió en 20.9% en los desnutridos de tercer grado ( $p>0.01$ , S).

Tabla No.1 CARACTERISTICAS CLINICAS Y CIFRAS PROMEDIO DE NIÑOS CON DIARREA CLASIFICADOS POR SU GRADO NUTRICIONAL.

| GRADO NUTRICIONAL    | No DE CASOS | N  | SEXO<br>M F | EDAD<br>(MESES)              | *EVACUACIONES | CONSISTENCIA | F. AL. TOTAL(U/L)                            | F. A. I. (U/L)                              |
|----------------------|-------------|----|-------------|------------------------------|---------------|--------------|--|---|
| A1 EUTROFICOS        | 31          | 20 | 11          | 0.5 - 15<br>$\bar{X}$ = 6.33 | 5.5           | LIQUIDA      | D.T ± 1.87<br>3.0 - 11.6<br>$\bar{X}$ = 6.35 | D.T ± 0.46<br>0.3 - 2.3<br>$\bar{X}$ = 0.98 |
| A2 DESNUTRIDO<br>I   | 50          | 30 | 20          | 0.5 - 20<br>$\bar{X}$ = 8.15 | 4.9           | LIQUIDA      | D.T ± 1.74<br>2.7 - 9.3<br>$\bar{X}$ = 5.30  | D.T ± 0.39<br>0.4 - 2.5<br>$\bar{X}$ = 0.81 |
| A3 DESNUTRIDO<br>II  | 26          | 9  | 17          | 3.0 - 32<br>$\bar{X}$ = 7.70 | 4.2           | LIQUIDA      | D.T ± 1.33<br>2.5 - 7.0<br>$\bar{X}$ = 4.76  | D.T ± 0.39<br>0.4 - 1.8<br>$\bar{X}$ = 0.85 |
| A4 DESNUTRIDO<br>III | 8           | 7  | 1           | 0.5 - 20<br>$\bar{X}$ = 5.27 | 6.0           | LIQUIDA      | D.T ± 1.37<br>2.5 - 8.8<br>$\bar{X}$ = 4.12  | D.T ± 0.29<br>0.4 - 1.2<br>$\bar{X}$ = 0.66 |

Tabla No.2 CARACTERISTICAS CLINICAS Y CIFRAS PROMEDIO DE NIÑOS SIN DIARREA CLASIFICADOS POR SU GRADO NUTRICIONAL.

| GRADO NUTRICIONAL                | No DE CASOS | SEXO |    | EDAD                      | *EVACUACIONES | CONSISTENCIA     | F. AL. TOTAL (U/L)                          | F. A. I. (U/L)                              |
|----------------------------------|-------------|------|----|---------------------------|---------------|------------------|---|---|
|                                  |             |      |    |                           |               |                  |   |   |
| B <sub>1</sub> EUTROFICO         | 28          | 17   | 11 | 0.5-24<br>$\bar{X}$ =10.0 | 1.3           | SEMI-<br>PASTOSA | D.T ± 1.73<br>2.2 - 9.3<br>$\bar{X}$ =5.48  | D.T ± 0.29<br>0.4 - 1.5<br>$\bar{X}$ = 0.77 |
| B <sub>2</sub> DESNUTRIDO<br>I   | 74          | 33   | 41 | 0.5-28<br>$\bar{X}$ =9.05 | 1.3           | SEMI-<br>PASTOSA | D.T ± 2.0<br>3.1-12.0<br>$\bar{X}$ =6.00    | D.T ± 0.46<br>0.4 - 2.6<br>$\bar{X}$ = 1.06 |
| B <sub>3</sub> DESNUTRIDO<br>II  | 68          | 35   | 33 | 0.5-28<br>$\bar{X}$ =12.2 | 1.3           | SEMI-<br>PASTOSA | D.T ± 2.25<br>2.7-15.2<br>$\bar{X}$ =5.60   | D.T ± 0.59<br>0.2 - 4.3<br>$\bar{X}$ = 0.92 |
| B <sub>4</sub> DESNUTRIDO<br>III | 18          | 12   | 6  | 0.5-18<br>$\bar{X}$ =8.00 | 1.3           | SEMI-<br>PASTOSA | D.T ± 1.17<br>2.6 - 6.5<br>$\bar{X}$ = 4.33 | D.T ± 0.35<br>0.3 - 1.8<br>$\bar{X}$ = 0.85 |

En las tablas No. 3 y 4 se presentan los valores de  $\bar{p}$  algunos de los cuales ya fueron comentados. Se indican los valores de  $\bar{p}$  resultantes de comparar los valores promedio de la FAI y de la fosfatasa alcalina total en los grupos de los eutróficos y los desnutridos en diferente grado sin diarrea, con sus homólogos con diarrea. Así, la actividad de la FAI en los eutróficos fue mayor 27.2% ( $p > 0.005$ , S) en los diarréicos; cuando en éstos se presentó adicionalmente un grado de desnutrición, la actividad fue un 23.5% menor ( $p > 0.001$ , S); y en los desnutridos de segundo y tercer grado no hubo diferencias significativas, a pesar de que también se encontró descenso en 7.6% y 21%. En relación a la actividad de la fosfatasa alcalina total, se encontró en los eutróficos y en los desnutridos de tercer grado  $p < 0.1$  y  $p > 0.5$ , respectivamente (NS), mientras que en los desnutridos de primero y segundo grado  $p < 0.05$  (S) y  $p > 0.05$  (S).

En la tabla No. 5 se presentan los coeficientes de correlación ( $r$ ) entre la fosfatasa alcalina total y la FAI del grupo de niños sin diarrea y de acuerdo con su condición nutricional. En el grupo de eutróficos se obtuvo un valor de  $r=0.52$ , en tanto que para los desnutridos de primer grado el valor de  $r=0.57$ , en los de segundo grado  $r=0.77$  y en los de tercer grado  $r=0.72$ . Lo anterior es indicativo de la poca relación que debe existir entre la FAI y la fosfatasa alcalina total.

La tabla No. 6 muestra datos similares pero en niños con diarrea. Para los niños eutróficos se obtuvo un valor  $r=0.78$ , mientras que en los desnutridos de primer grado se obtuvo  $r=0.44$ , en los desnutridos de segundo grado  $r=0.65$  y en los desnutridos de tercer grado  $r=0.68$ . A pesar de que nos indican la poca relación entre la FAI y la fosfatasa alcalina total, vemos como se incrementan al aumentar el grado de desnutrición.

FOSFATASA ALCALINA TOTAL.

Tabla No.3

|                 |      |       |       |  |        |       |       |
|-----------------|------|-------|-------|--|--------|-------|-------|
| EUTROFICOS      |      |       |       |  |        |       |       |
| SIN DIARREA     | >0.2 |       |       |  |        |       |       |
| DESNUTRIDOS I   |      | >0.5  |       |  |        |       |       |
| SIN DIARREA     |      |       | >0.01 |  |        |       |       |
| DESNUTRIDOS II  |      |       |       |  |        |       |       |
| SIN DIARREA     |      |       |       |  | <0.1   |       |       |
| DESNUTRIDOS III |      |       |       |  | = 0.4  | >0.5  |       |
| SIN DIARREA     |      |       |       |  | >0.1   | <0.05 | <0.1  |
|                 | <0.2 |       |       |  | <0.001 |       | <0.05 |
|                 |      |       |       |  |        | >0.05 |       |
| EUTROFICOS      |      |       |       |  |        |       |       |
| CON DIARREA     |      |       |       |  |        |       |       |
| DESNUTRIDOS I   |      |       |       |  |        |       |       |
| CON DIARREA     |      | >0.01 |       |  |        |       |       |
| DESNUTRIDOS II  |      |       |       |  |        |       |       |
| CON DIARREA     |      |       |       |  |        |       |       |
| DESNUTRIDOS III |      |       |       |  |        |       |       |
| CON DIARREA     |      |       |       |  |        |       |       |

VALORES DE p

FOSFATASA ALCALINA INTESTINAL.

Tabla No. 4

|                                |      |        |        |       |        |        |      |      |
|--------------------------------|------|--------|--------|-------|--------|--------|------|------|
| EUTROFICOS<br>SIN DIARREA      |      | <0.025 |        |       |        |        |      |      |
| DESNUTRIDOS I<br>SIN DIARREA   |      |        | >0.5   |       |        |        |      |      |
| DESNUTRIDOS II<br>SIN DIARREA  |      |        |        | >0.5  |        |        |      |      |
| DESNUTRIDOS III<br>SIN DIARREA |      |        |        |       | >0.005 |        |      |      |
|                                |      |        |        |       |        | >0.4   | >0.5 |      |
|                                | >0.1 |        | >0.5   |       |        | >0.001 | <0.4 |      |
|                                |      |        | >0.025 |       |        |        |      | >0.2 |
| EUTROFICOS<br>CON DIARREA      |      |        |        |       |        | >0.5   |      |      |
| DESNUTRIDOS I<br>CON DIARREA   | <0.1 |        |        |       |        |        | <0.2 |      |
| DESNUTRIDOS II<br>CON DIARREA  |      |        | <0.001 |       |        |        |      |      |
| DESNUTRIDOS III<br>CON DIARREA |      |        |        | >0.01 |        |        |      |      |

VALORES DE  $p$

COEFICIENTES DE CORRELACION PARA LOS  
DIVERSOS GRUPOS DE NIÑOS SIN DIARREA.

Tabla No.5

|                 |             |                 |
|-----------------|-------------|-----------------|
| EUTROFICOS      | $r$<br>0.52 | EUTROFICOS      |
| DESNUTRIDOS I   | 0.57        | DESNUTRIDOS I   |
| DESNUTRIDOS II  | 0.77        | DESNUTRIDOS II  |
| DESNUTRIDOS III | 0.72        | DESNUTRIDOS III |

FOSFATASA ALCALINA  
TOTAL

FOSFATASA ALCALINA  
INTESTINAL



COEFICIENTES DE CORRELACION PARA LOS  
DIVERSOS GRUPOS DE NIÑOS CON DIARREA.

Tabla No.6

|                 |      |                 |
|-----------------|------|-----------------|
| EUTROFICOS      | $r$  | EUTROFICOS      |
| DESNUTRIDOS I   | 0.78 | DESNUTRIDOS I   |
| DESNUTRIDOS II  | 0.44 | DESNUTRIDOS II  |
| DESNUTRIDOS III | 0.65 | DESNUTRIDOS III |
|                 | 0.68 |                 |

FOSFATASA ALCALINA  
TOTAL

FOSFATASA ALCALINA  
INTESTINAL

DISCUSSION.

El objetivo principal del presente estudio, ha sido detectar si existían cambios en la actividad de la FAI en el suero sanguíneo de niños con diarrea.

El incremento en la actividad encontrada en los niños eutróficos con diarrea se puede explicar por: a).- lesiones morfológicas de las células situadas en la mucosa intestinal y en especial de sus membranas; b).- alteraciones bioquímicas celulares acompañadas de cambios en la permeabilidad de la membrana; c).- metabolismo celular aumentado; d).- lisis celular y finalmente, e).- reserva suficiente en la poza metabólica.

En este trabajo no se relacionó la actividad de la -- FAI con la presencia de bacterias enteropatógenas (51-53). No obstante, se ha descrito que estos microorganismos colonizan al tubo digestivo por su capacidad de adherirse a la membrana luminal de las células epiteliales (54), así como en la infección viral se produce lisis por invasión. También se sabe que en el sitio de unión se establece una interacción entre las estructuras bacteriana llamadas pili o fimbriae y receptores específicos, situados sobre la superficie de la célula intestinal (55)

Además, una vez colonizado el tubo digestivo le sigue una fase de reproducción bacteriana, en la que existe liberación de enterotoxinas (56) las que estimulan a la adenil ciclasa, y ésta a su vez induce cambios bioquímicos en las concentraciones intracelulares del 5-AMP<sub>c</sub> (57) y con ello, cambios en la permeabilidad de la membrana celular y alteraciones en el metabolismo del agua y electrolitos (57).

Finalmente, en una cuarta etapa dichas bacterias invaden mediante diversos mecanismos (58) a la mucosa intestinal, alcanzan lámina propia y se instalan en el intersticio (59) o bien en forma intracelular, pero conducen a necrosis y a lisis

celular respectivamente.

Ahora bien, los promedios de actividad de la FAI encontrados en los grupos  $B_2$ ,  $B_3$  y  $B_4$  estuvieron todos por arriba del promedio del grupo control aunque sólo tuvo significancia estadística ( $p < 0.025$ ) el del grupo de niños desnutridos de primer grado.

Este aumento de actividad de los niños desnutridos de primer grado y su incremento relativo (NS) en los niños de segundo y tercer grado pudiera estar condicionado por: a).- células de la mucosa intestinal con trabajo metabólico mayor que el del niño eutrófico y b).- células de la mucosa intestinal con alteraciones estructurales de la membrana.

Dado que la actividad de la FAI mostró tendencia a ser mayor conforme el grado de desnutrición es menor, se puede descartar el inciso b. Además, prácticamente todos los niños con desnutrición se encontraban en proceso de recuperación y por lo tanto el inciso a resulta más factible.

Se ha descrito que la mucosa intestinal normal está compuesta de vellosidades y criptas de Lieberkühn, las que guardan entre sí una relación en su tamaño de 4:1 ó 5:1 (60) la que se pierde en la desnutrición calórico-protéica del niño, en forma concomitante al deterioro nutricional (60,61). Para explicar esta disminución de la altura de las vellosidades se han propuesto varios mecanismos patogénicos. Pero el más interesante es el propuesto por Doniach y Shiner (62) y Creamer (63) quienes sugirieron que la integridad, el tamaño y la forma de las vellosidades dependen de la población celular normal del epitelio superficial de la mucosa. Además, existen evidencias (64) que sugieren que las lesiones en estructuras de la vellosidad inducen disminución de su altura (atrofia). Lo anterior es restituido por la -

hipertrofia de las criptas, sitio donde las mitosis aumentan con el objeto de sustituir las células dañadas. Estas observaciones pueden explicar la actividad promedio de los grupos B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y B<sub>4</sub> que se encontraron por arriba del promedio del grupo control, - pero no se encontró explicación a la mayor actividad de la FAI en el grupo de desnutridos de primer grado a no ser el esfuerzo metabólico por alcanzar la homeorresis.

Se sabe que la carencia de alimentos prolongada per se, induce cambios morfológicos graves que alteran a las células -- del intestino y su funcionamiento. Gómez (65) describió el deficiente aprovechamiento de las grasas por niños desnutridos, y - encontró diferentes grados de absorción y una disminución hasta del 48% de la grasa ingerida y que ésta mejoraba hasta el 79% - durante la recuperación. Estos estudios indicaron una mejoría - en el grado de absorción a medida que la desnutrición era menos grave sin que esta observación tuviera significancia estadística.

Por otro lado, se ha descrito a la FAI como un índice de la absorción de grasas (66).

Los resultados de la actividad de la FAI en nuestro estudio muestran una media de 0.83 um/L en el grupo de niños con desnutrición calórico-protéica mas avanzada; una media 0.92 um/L en aquellos con desnutrición de segundo grado; y una media de -- 1.06 um/L en los que presentaban desnutrición de primer grado - que explicaría lo encontrado por Gómez, aún cuando tampoco se - encontraron diferencias significativas en los grupos con desnutrición de segundo y tercer grado.

Por lo que respecta a la comparación de los promedios de los grupos de primero, segundo y tercer grado sin diarrea con sus homólogos pero con diarrea se observó en todos ellos disminución de la FAI, significativa ( $p < 0.001$ ) únicamente en el grupo de primer grado con diarrea.

El por qué el grupo de niños  $A_1$ , elevó la actividad de la FAI ya se discutió. Pero... ¿porqué los grupos  $A_2$ ,  $A_3$  y  $A_4$  disminuyen la actividad de esta enzima en relación a sus -- controles homólogos ?. Esto último pudiera ser explicado en base a las siguientes posibilidades: a).- los agentes causales de la diarrea actuaron sobre la mucosa intestinal con una celularidad menor a la de los eutróficos; b):- la probable hiperactividad metabólica celular del desnutrido sin diarrea se vió afectada por disminución de aporte calórico-protéico durante la enfermedad diarréica o bien se destinó a fines mas prioritarios relacionados con la restauración de la homeostasis.

La comparación de los promedios de la FAI del grupo  $A_1$  con los grupos  $A_2$ ,  $A_3$  y  $A_4$  mostraron ser significantes únicamente en los grupos  $A_3$  y  $A_4$ . Sin embargo, la tendencia fue al descenso, lo que puede sugerir las observaciones ya hechas sobre las diferencias protéicas en estos grupos de niños.

Finalmente cabe aclarar que no se contó con información sobre trabajos similares por lo que la comparación no hizo.

La determinación de la actividad de la FAI, como se a noto en material y método fue por inhibición con L-fenilalanina, para lo cual primeramente se necesitó conocer el valor de la actividad de la fosfatasa alcalina total. A pesar de que el objeto de este estudio no fue investigar la actividad de la fosfatasa alcalina total en el suero, la obtención de esta fue necesaria. El valor promedio en el grupo  $B_1$  de 5.48 um/L con límites de -- 2.2-9.3 um/L establece las cifras de referencia de este trabajo. Además, permitió corroborar observaciones previas (67) que muestran que la actividad de la fosfatasa alcalina total es menor -- en los desnutridos de tercer grado, pero no corroboran dicha observación en los niños desnutridos de primer y segundo grado, ya

que sus valores promedio encontrados no tuvieron diferencias significativas con el grupo control.

Cuando los niños presentaron diarrea se observó que la actividad de la fosfatasa alcalina total aumentó en 15.9% en el grupo  $A_1$  aunque no fue en forma significativa  $p < 0.1$ . Esta observación sugirió la posibilidad de que el incremento significativo de la FAI no repercutió en forma importante en el nivel total de esta enzima.

El comportamiento de la fosfatasa alcalina total en los niños con diarrea siguió el mismo patrón que el descrito para la FAI, es decir la actividad desciende cuando se comparan los desnutridos sin diarrea con sus homólogos con diarrea y cuando se compara el grupo  $A_1$  con el  $A_2$ ,  $A_3$  y  $A_4$ .

La correlación de la FAI con la fosfatasa alcalina total en el grupo  $B_1$  (control)  $r=0.52$  con  $p < 0.005$  se incrementa en el grupo  $A_1$  ya que tiene una  $r=0.78$  con  $p < 0.001$ , lo que puede sugerir que en el grupo de eutróficos con diarrea la contribución de la FAI al torrente sanguíneo fue mayor y que posiblemente otros órganos productores de fosfatasa alcalina limitaron su producción.

El índice de correlación de la FAI con la fosfatasa alcalina total fue mayor conforme la desnutrición es mas grave alcanzando un máximo de correlación en los desnutridos de segundo grado, lo que es sugestivo de que la actividad de FAI está ocupando un lugar importante en la recuperación del niño desnutrido.

Analizando los polígonos de frecuencia del grupo de niños con diarrea, expresados en las gráficas 3 y 4 se puede apreciar que los valores mas altos para la fosfatasa alcalina total y para la FAI fueron 17.2 um/L y de 4.4 um/L respectivamente.

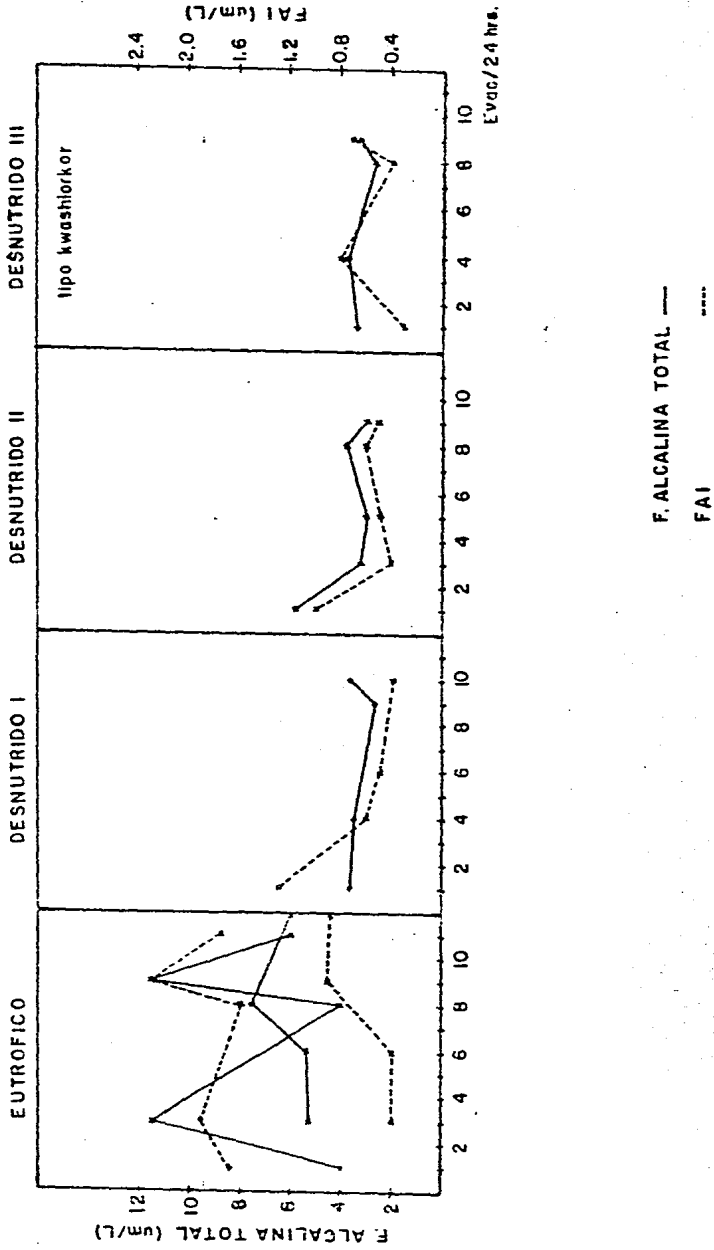
te, pero estos valores corresponden a un solo niño, el que presentó diarrea crónica y en el que se detectó, G. lamblia y Uncinaria. Este paciente además corresponde al grupo de niños con desnutrición de tercer grado y en realidad cursaba con un síndrome de absorción intestinal deficiente. En base a lo anterior se consideró que dicho paciente correspondía a otro universo y por lo tanto fue excluido; pero resulta de interés que niños con desnutrición severa puedan elevar esta enzima a niveles de esa magnitud.

La comprobación de la inhibición de la FAI por L-fenilalanina, empleando otra metodología como la electroforesis no pudo realizarse por no contar el Hospital con los recursos necesarios. No obstante, muchos autores han encontrado un 78% de -- inhibición con L-fenilalanina (36-38).

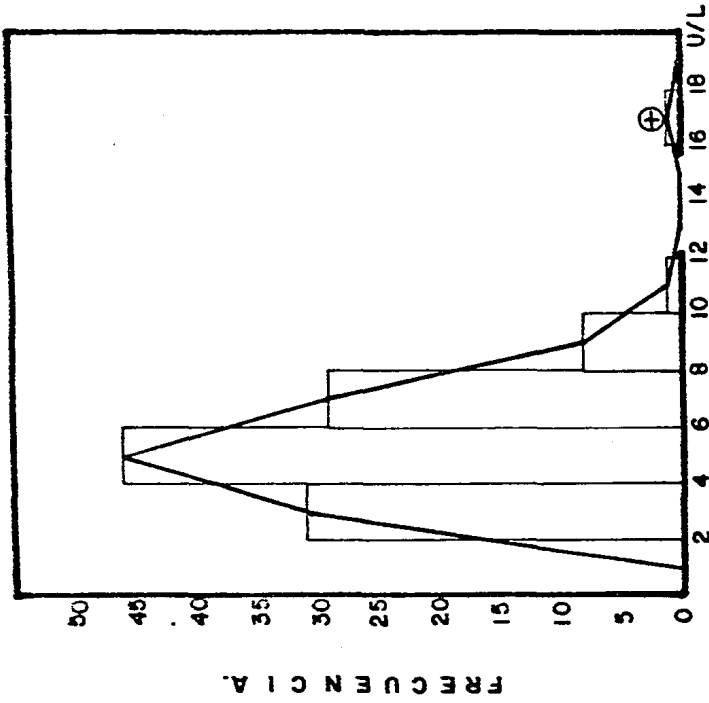


Gráfico No.1

GRAFICAS QUE MUESTRAN LA EVOLUCION DEL SINDROME DIARREICO POR MEDIO DE LA :  
EVALUACION DE LA FOSFATASA ALCALINA TOTAL Y LA FAI.



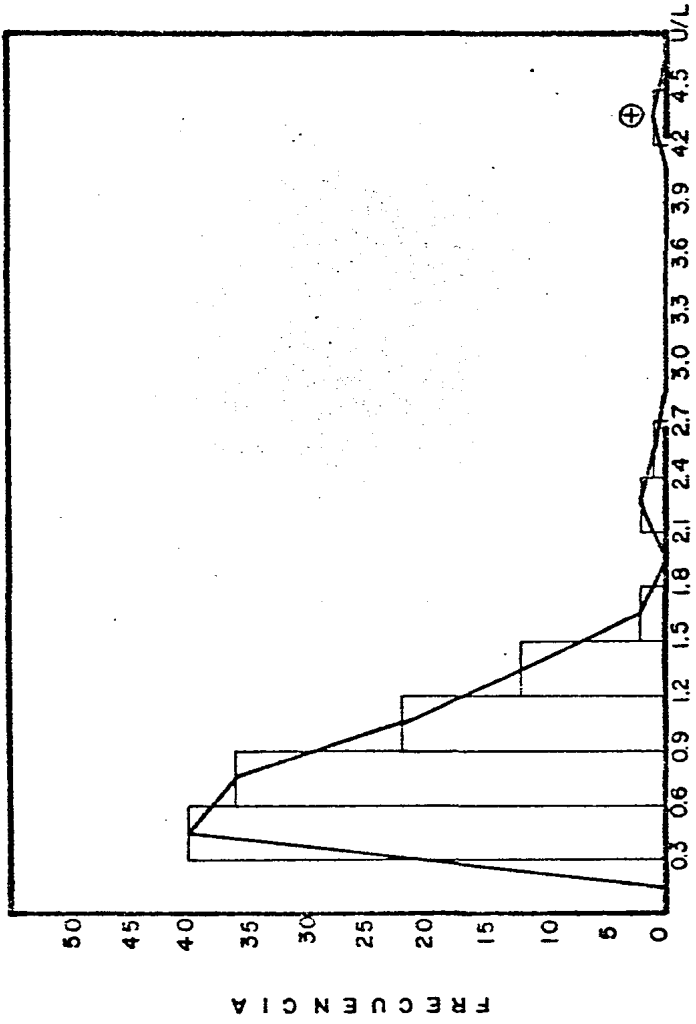
Grafica No.2



HISTOGRAMA Y POLIGONO DE FRECUENCIA.  
VALORES DE F.AL. TOTAL EN 115 MUES-  
TRAS DE NIÑOS CON DIARREA.

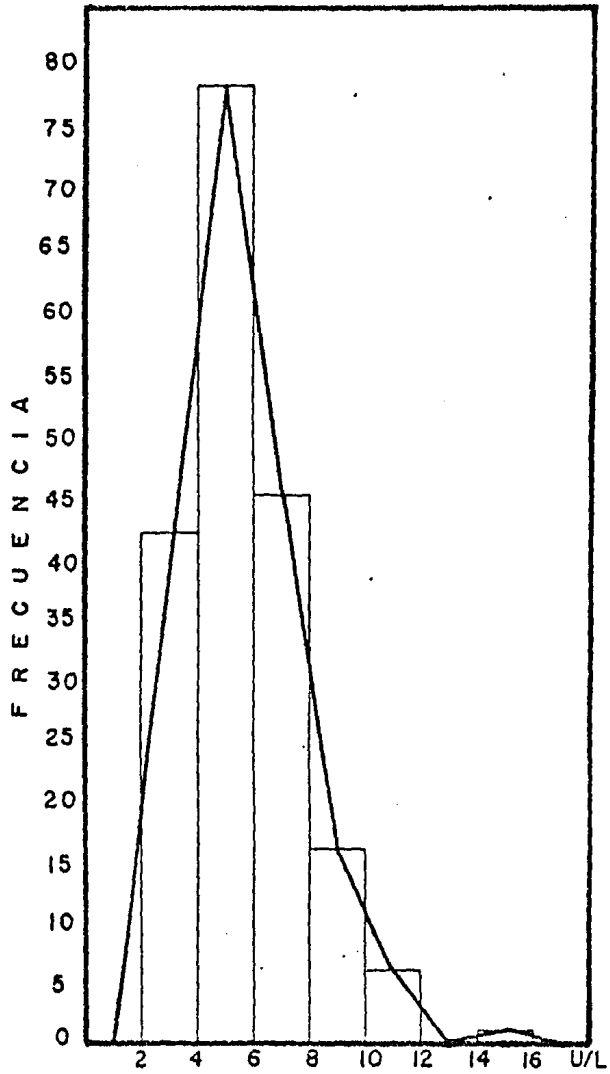
⊕ EXCLUIDO

Grafica No. 3



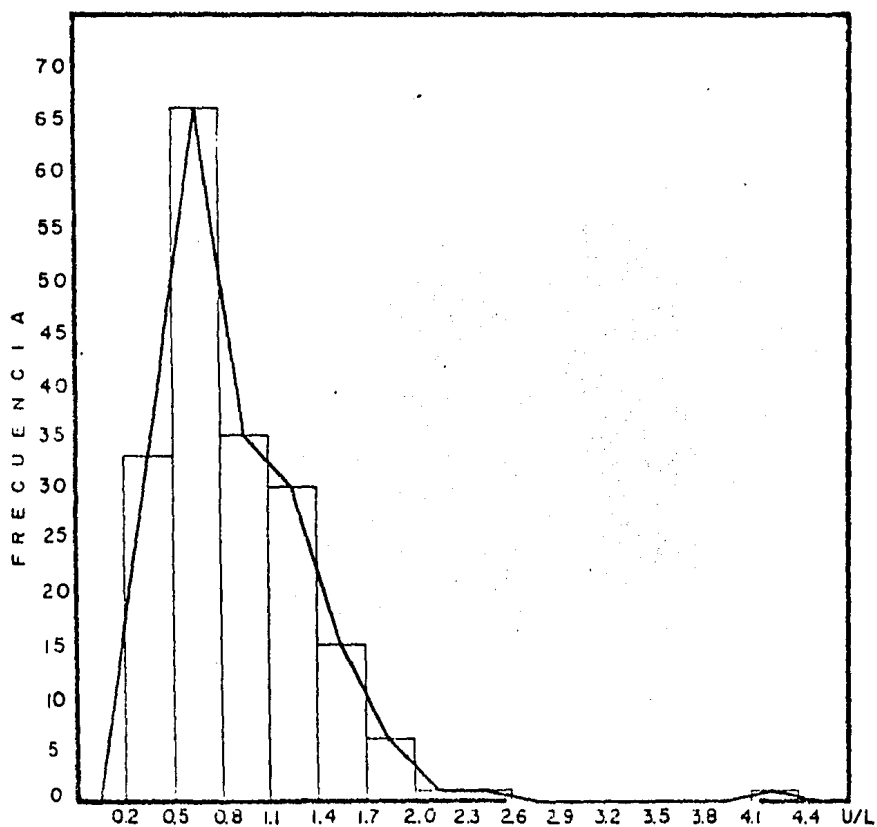
HISTOGRAMA Y POLIGONO DE FRECUENCIA. VALORES DE FAI EN  
115 MUESTRAS DE NIÑOS CON DIARREA.  
⊕ EXCLUIDO.

Grafica No. 4



HISTOGRAMA Y POLIGONO DE FRECUENCIA.  
VALORES DE F.AL TOTAL EN 188 MUES-  
TRAS DE NIÑOS SIN DIARREA.

Grafica No. 5



HISTOGRAMA Y POLIGONO DE FRECUENCIA. VALORES DE FAI EN 188 MUESTRAS DE NIÑOS SIN DIARREA

CONCLUSIONES.

- 1.- Se comprobó que existen cambios en el nivel del suero de la FAI en niños con diarrea. Estos cambios son en niños eutróficos con diarrea que incrementan la actividad a niveles altamente significativos ( $\bar{x}=0.98$  um/L,  $p>0.005$ ).
- 2.- La actividad de FAI aumentó en el grupo de niños desnutridos de primer grado a niveles estadísticamente significativos - ( $\bar{x}=1.06$  um/L,  $p<0.025$ ); mientras que los desnutridos de segundo y tercer grado no tuvo significancia estadística ---- ( $\bar{x}=0.92$  um/L,  $p>0.5$ ;  $\bar{x}=0.83$  um/L,  $p>0.5$ ; respectivamente.)
- 3.- La comparación de los grupos de niños desnutridos sin diarrea con sus homólogos con diarrea mostró descenso en la FAI altamente significativo en los desnutridos de primer grado diarréicos ( $\bar{x}=0.81$  um/L,  $p>0.001$ ) y estadísticamente no significativos en los desnutridos de segundo y tercer grado ( $\bar{x}=0.85$  um/L,  $p>0.5$ ;  $\bar{x}=0.65$  um/L,  $p<0.2$ ; respectivamente).
- 4.- Este estudio queda como preliminar y abre un campo mas para utilizar a la FAI como un índice bioquímico que ayude a justipreciar la lesión de la mucosa intestinal en el síndrome diarréico.

R E S U M E N



Se estudiaron 135 niños cuyas edades estuvieron comprendidas entre 0.5 a 32 meses, mediante la medición de la actividad de la FAI. Para la valoración de ésta, se utilizó una técnica implementada en el Laboratorio Clínico del Hospital General de Zona # 24 del I.M.S.S., la cual utiliza un inhibidor estereo-específico como lo es la L-fenilalanina.

El total de niños se dividió en dos grupos: grupo A: formado por 59 niños que presentaron diarrea y grupo B constituido por 76 niños sin diarrea. Los niños de ambos grupos fueron clasificados de acuerdo a su condición nutricia en eutróficos y desnutridos (primero, segundo y tercer grado).

La comparación de los valores promedio entre los grupos A y B no fueron significativos ( $p > 0.1$ ), pero cuando la comparación se realizó entre el subgrupo control (eutróficos sin diarrea) y los subgrupos de cada uno de los grupos, se obtuvieron resultados estadísticamente significativos.

Por lo anterior, se puede sugerir que las diferencias encontradas entre el subgrupo control y los demás subgrupos pudiera deberse a alteraciones anatómicas de la mucosa intestinal ocasionadas por el agente causal de la diarrea, además de las encontradas en la desnutrición. Así mismo, sugiere que la FAI puede utilizarse en el estudio de niños con diarrea, ya que existen cambios en el nivel del suero de la isoenzima.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Lev, R., Griffiths, W. C.: Colonic and small intestine alkaline phosphatase. A histochemical and biochemical study. -- *Gastroenterology* 82: 1427 (1982).
- 2.- Nitowsky, H. M., Hers, F.: Alkaline phosphatase in cell cultures of human origin. *Nature (LOND)* 189: 756 (1961).
- 3.- Shields, H. M., Bair, F. A., Bates, M. L., Yedlin, S. T. -- and Alpers, D. H.: Localization of immunoreactive alkaline phosphatase in the rat small intestine all the light microscopic level by immunocytochemistry. *Gastroenterology* 82: 39 (1982).
- 4.- Torres Gallardo, J., Esteban, J., Chávez, A., Soberon, G.: Isozimas de la fosfatasa alcalina en el suero de enfermos-desnutridos. Mem III. Reunión anual, Sociedad Mexicana de nutrición y Endocrinología. 189 (1962).
- 5.- Estepan, J., Marek, J., Hauranek, T., Dolezal, U. Y., Pacovský, U.: Bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase in acromegalia. *Clin. Chim. Acta* 93: 335 (1979).
- 6.- Hitz, J., Daigle, G., Petitclero, C., Schiele, P. and Siest, G.: Automated quantification of bone and liver alkaline --- phosphatase isoenzymes of human serum. *Clin. Chim. Acta* 107: 203 (1980).
- 7.- Kerzner, B. y McClung, H. J.: Viral gastroenteritis digestive diseases in children. Ed. por E. Lebenthal: 333 (1978).
- 8.- Formal, S. B., Genski, P., Giannella, R. A., Takenchi, A.: Studies on the pathogenesis of enteric infections caused by invasive bacteria. *J. Clin. Invest.* 52: 441 (1975).
- 9.- Ahmed, Z. and King, E. J.: Kinetics of placental alkaline - phosphatase. *Biochim. Biophys. Acta (Amst)* 45: 581 (1960).
- 10.- Morton, R. K.: Some properties of alkaline phosphatase of cow's milk and calf intestinal mucosa. *Biochem. J.* 60: -- 573 (1955).
- 11.- Komoda, T., Sakagishi, Y. and Sekine, T.: Multiple forms

- of human intestinal alkaline phosphatase: Chemical and enzymatic properties and circulating clearances of the fast and slow-moving enzymes. *Clin. Chim. Acta* 117: 167 (1981).
- 12.- Hambrage, K. M., Walravens, P. A. and Meldner, K. H.: Zinc and acrodermatitis enterohéptica. In: zinc and copper in clinical medicine, edited by K. M. Hambrage. New York: Hoeplliswood. 81 (1978).
- 13.- Turcker, S. B., Schoroeter, A. L., Brown, P. W. and McCall, J. T.: Acquired zinc deficiency: cutaneous manifestations - typical of acrodermatitis enterohéptica. *J. Am. Med. Assoc.* 235: 2399 (1976).
- 14.- Suita, S., Ikeda, K., Nagasaki, A. and Hayashida, Y.: zinc deficiency during total parenteral nutrition in childhood. *J. Pediat. Surg.* 13: 5 (1978).
- 15.- Fishman, W. H., Ghosh, N. K.: Isoenzymes of human alkaline phosphatase. *Adv. Clin. Chem.* 10: 255 (1967).
- 16.- Morton, R. K.: The purification of alkaline phosphatase of animal tissue. *Biochem. J.* 57: 595 (1954).
- 17.- Holt, J. H., Miller, D.: The localization of phosphomonoesterase and aminopeptidase in brush borders isolate from intestinal epithelial cells. *Biochim. Biophys. Acta* 58: 239 (1962).
- 18.- Fishman, L.: Acrylamide disc gel electrophoresis of alkaline phosphatase of human tissues, serum and ascites fluid - using triton X-100 in the sample and the gel matrix. *Biochem. Med.* 2: 309 (1974).
- 19.- Ghosh, N. K., Fishman, W. K.: Purification and properties of molecular weight variants of human placental alkaline phosphatase. *Biochem. J.* 108: 779 (1968).
- 20.- Nitowsky, H. M., Herz, F.: Alkaline phosphatase in cell cul

- tures of human origin. *Nature (Lond)* 189: 756 (1961).
- 21.- Ureven, J., Lieberheri, M., Vals, G.: The acid and alkaline phosphatase, inorganic pyrophosphatases and phosphoprotein phosphatase of bone. *Biochim. Biophys. Acta* 293: 170 (1973).
- 22.- Borgers, M.: Ultrastructural localization of alkaline phosphatase activity in the absorbing cells of the duodenum of mouse. *J. Histochem. Cytochem.* 14: 629 (1966).
- 23.- Sandborn, E. B., Makita, T.: The effect of dimethyl sulfoxide on aldehyde fixation and the localization of alkaline phosphatase activity in tissues. *J. Cell. Biol.* 43: 121 -- (1969).
- 24.- Sandborn, E. B., Makita, T., Lin, K.: The use of dimethylsulfoxide as an accelerator in the fixation of tissue for ultrastructural and cytochemical studies and in freeze -- etching enls. *Anat. Rec.* 163: 255 (1969).
- 25.- Norman, A., Mircheff, A. K., Adama, T. H. et al: Studies on the mechanism of action of calciferol III. Vitamin D mediated increase of intestinal brush border alkaline phosphatase activity. *Biochem. Biophys. Acta* 215: 348 (1970).
- 26.- Hanssler, M. R., Nogode, L. A., Rasmussen, H.: Induction of intestinal brush border alkaline phosphatase by vitamin D and identity with CaATPase. *Nature (Lond)* 228: 1199 (1970).
- 27.- Fishman, W. H., Lin, C. W.: Membrane phosphohydrolases, metabolic conjugation and metabolic hydrolysis. New York, Academic Press: 387 (1973).
- 28.- Fishman, W. H., Ghosh, N. K.: Isoenzymes of human alkaline phosphatase. *Adv. Clin. Chem.* 10: 255 (1967).
- 29.- Fernley, H. N.: Mammalian alkaline phosphatase. Chap. 18. - The enzymes. Vol 4, New York, Academic Press, Inc. 417 --- (1971).

- 30.- Lazdunski, M., Petitclerc, C., Chappelet, D., Lazdunski, C.: "Flip-flop" mechanism in enzymology. A model: The alkaline phosphatase of *Escherichia coli*. *Eur. J. Biochem.* - 20: 124 (1974).
- 31.- Tan, I. K., Chio, L. F., Teow, Jiah, L.: Heat stability of human serum alkaline phosphatase in bone and liver diseases *Clin. Chim. Acta* 41: 329 (1972).
- 32.- Fitzgerald, M. K., Fennelly, J. J., McGeeney, K.: The value of differential alkaline phosphatase thermostability - in clinical diagnosis. *Am. J. Clin. Pathol.* 51: 194 (1969).
- 33.- Estborn, B.: Separation of phosphatase isoenzymes by gel - filtration. *Z. Klin. Chem.* 2: 53 (1964).
- 34.- Moss, D. W.: Heterogeneity of human intestinal alkaline -- phosphatase. *Nature* 200: 1206 (1963).
- 35.- Moss, D. W.: Isoenzymes of alkaline phosphatase in autolyzed and butanol-extracted liver preparations. *Nature* 193: 981 (1962).
- 36.- Ghosh, N. K., Fishman, W. H.: L-phenylalanine inhibition - of rat intestinal alk line phosphatase: a homosteric phenomenon. *Arch. Biochem. Biophys.* 126: 700 (1968).
- 37.- Ghosh, N. K., Fishman, W. H.: On the mechanism of inhibition of intestinal alkaline phosphatase by L-phenylalanine. *J. - Biol. Chem.* 241: 2516 (1966).
- 38.- Fernley, H. N., Walker, P. G.: Inhibition of alkaline phosphatase by phenylalanine. *Biochem. J.* 116: 543 (1970).
- 39.- Lin, C. W., Sic, H. G., Fishman, W. H.: L-tryptophan. A non allosteric organ-specific incompetitive inhibitor of human placental alkaline phosphatase. *Biochem. J.* 124: 509 (1971).
- 40.- Nakayama, T., Yoshida, M., Kitamura, M.: L-leucine sensitive, heat-stable alkaline phosphatase isoenzymes (Nagao, 1962)

- enzymes) detected in adeno-carcinoma of pancreas tail. *Rynshokagaku* 11: 80 (1971).
- 41.- Nakayama, T., Yoshida, M., Kitmura, M.: L-leucine sensitive heat-stable alkaline phosphatase isoenzymes detected in a patient with pleuritis carcinomatosa. *Clin. Chim. Acta* - 30: 546 (1970).
- 42.- Kellen, J. A., Lustig, V.: Patterns of aminoacid inhibition of alkaline phosphatase as an acid in cancer diagnosis. *Oncology* 25: 239 (1971).
- 43.- Brunel, C., Cathala, G.: Imidazol: an inhibitor of L-phenyl alanine-insensitive alkaline phosphatase of tissue --- other than intestine and placentas. *Biochim. Biophys. Acta* 268: 415 (1972).
- 44.- VanBelle, H.: Kinetics and inhibition of alkaline phosphatase from canine tissue. *Biochim. Biophys. Acta* 289: 158 - (1972).
- 45.- Ramos Alvarez, M. y Olarte, J.: Diarrheal diseases of children. *Am. J. Dis. Child.* 107: 218 (1964).
- 46.- Ramos-Galvan, R.: Somatometría pediátrica. *Arch. Invest. - Med.* 6: 100-104 y 233-242 (1964).
- 47.- Gómez, F.: Desnutrición. *Bol. Med. Hosp. Inf. (Mex)* 3: 543 (1943).
- 48.- Bessey, O. A., Lowry, O. H., Brock, M. J.: A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem.* 154: 321 (1946).
- 49.- McComb, R. B., Bowers, G. N. Jr., Posen, S.: Alkaline phosphatase. Plenum Press, New York, N. Y. (1979).
- 50.- Bowers, G. N. Jr., McComb, R. B. *Clin. Chem.* 12: 70 (1966).
- 51.- Giannella, R.A.: Pathogenesis of Salmonella enteritis and diarrhea. *Gastroenterology* 69: 1238 (1975).
- 52.- Moon, H. W., Isaacson, R. E., Pohlentz, J.: Mechanisms of -

- association of enteropathogenic *E. coli* with intestinal epithelium. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 119 (1979).
- 53.- Rout, W. R., Formal, S. B., Giannella, R. A., Dammin, G. J.: Pathophysiology of *Shigella* diarrhea in the rhesus monkey: intestinal transport, morphological and bacteriological -- studies. *Gastroenterology* 68: 270 (1975).
- 54.- Moon, H. W.: Luminal and mucosal factors of small intestine affecting pathogenic colonization. *Ann. Rev. Microbiol.* 29: 333 (1980).
- 55.- Ofek, I., Beachey, E. H.: Bacterial adherence. *Adv. Intern. Med.* 25: 503 (1980).
- 56.- Sack, R. B.: Human diarrheal disease caused by enterotoxigenic *E. coli*. *Ann. Rev. Microbiol.* 19: 321 (1975).
- 57.- Giannella, R. A., Gots, R. E., Charney, A. M., Greenough, W. B., Formal, S. B.: Pathogenesis of *Salmonella*-mediated intestinal fluid secretion: activation of adenylyl cyclase -- and inhibition by indomethacin. *Gastroenterology* 69: 1238 (1975).
- 58.- O'Brien, A. D., Gentry, M. K., Thompson, M. R., Doctor, B. P., Genski, P., Formal, S. B.: Shigellosis and *E. coli* -- diarrhea: relative importance of invasive and toxigenic -- mechanisms. *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 229 (1979).
- 59.- Takenchi, A.: Penetration of intestinal epithelium by various microorganisms. *Curr. Top. Pathol.* 54: 1 (1971).
- 60.- Cuéllar, A.; Alemán, P.; Reyes, P. y Naranjo, C.: Alteraciones morfológicas de la mucosa duodenoyeyunal en el niño. -- *Rev. Mex. Ped.* 37: 164 (1968).
- 61.- Baker, S. J., Ignatius, M., Nathan, U. I., Vaish, S. K. y Chako, C. C.: Intestinal biopsy in tropical sprue. En: -- intestinal biopsy (ED). Little, Brown and Co. (Boston) pag. 84 (1962).



- 62.- Doniach, J. y Shiner, M.: Duodenal and jejunal biopsies. II Histology. *Gastroenterology*. 33: 71 (1957).
- 63.- Creamer, B.: The dynamics of the small intestinal mucosa. En: *Recent advances in Gastroenterology*. Badenoch, J. y - Brooke, B. N. (EDS). Little, Brown and Co. (Boston), 148 - 1965).
- 64.- Takano, J.: Intestinal changes in protein deficient rats. *Exp. Molec. Path.* 3: 224 (1964).
- 65.- Ramos-Galvan, R.: Desnutrición en el niño. En: *modificaciones funcionales*. Ed. Hospital Infantil de México (México) (1969).
- 66.- Madsen, N. B., Tuba, J.: On the source of the alkaline phosphatase in rat serum. *J. Biol. Chem.* 195: 741 (1952).
- 67.- Velásquez-Maldonado, R. E.: Algunos aspectos de la capacidad de absorción intestinal en niños desnutridos graves. - Tesis de post-grado. DIF (México). Nov. 1970 a jul. 1973.