

Artículo Especial

Diálogos entre investigadores básicos y clínicos: hipofosfatasia

Beatriz García Fontana¹, José A. Riancho²

¹Unidad de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Clínico San Cecilio. Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA). Centro de Investigación Biomédica en Red de Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES). Granada. ²Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Departamento de Medicina y Psiquiatría. Universidad de Cantabria. Instituto de Investigación Valdecilla (IDIVAL). Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER). Santander

Resumen

Palabras clave:

Fosfatasa
alcalina.
Biomarcador.
Hipofosfatasia.
ALPL. Genética.

La mayor parte de la fosfatasa alcalina (FA) sérica (más del 90 %) proviene del hígado y del hueso. Normalmente, la contribución de otros tejidos, como el intestino o el riñón es mucho menor, aunque la placenta es una fuente importante durante el embarazo. La elevación de la FA suele, por tanto, ser indicativa de enfermedad hepática u ósea.

El análisis de otras enzimas hepáticas, y en particular la GGT (elevada en caso de lesión hepática y normal en las enfermedades óseas), suele aclarar el origen. En caso de duda, se puede medir la isoforma ósea o hacer un perfil de todas las isoenzimas.

Recibido: 31/05/2024 • Aceptado: 31/05/2024

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de interés.

Inteligencia artificial: los autores declaran no haber usado inteligencia artificial (IA) ni ninguna herramienta que use IA para la redacción del artículo.

García Fontana B, Riancho JA. Diálogos entre investigadores básicos y clínicos: hipofosfatasia. Rev Osteoporos Metab Miner 2024;16(2):56-60

DOI: 10.20960/RevOsteoporosMetabMiner.00046

Correspondencia:

Beatriz García Fontana (bgfontana@fibao.es) y
José A. Riancho (jose.riancho@unican.es)

FOSFATASA ALCALINA: BIOMARCADOR DE HIPOFOSFATASIA Y OTROS TRASTORNOS

La mayor parte de la fosfatasa alcalina (FA) sérica (más del 90 %) proviene del hígado y de los huesos. Normalmente, la contribución de otros tejidos, como el intestino o el riñón, es mucho menor, aunque la placenta es una fuente importante durante el embarazo. La elevación de la FA suele ser, por tanto, indicativa de enfermedad hepática u ósea. El análisis de otras enzimas hepáticas, y en particular de la γ -glutamilttransferasa (GGT) (elevada en caso de lesión hepática y normal en las enfermedades óseas), suele aclarar el origen. En caso de duda, puede medirse la isoforma ósea o hacer un perfil de todas las isoenzimas.

La disminución de la FA es un hallazgo transitorio frecuente en diversas enfermedades agudas. De forma más mantenida, puede verse en trastornos sistémicos diversos, como la celiaquía, el mieloma, la anemia grave (sobre todo por deficiencia de vitamina B_{12}) o diversas situaciones que cursan con la ralentización de la actividad osteoblástica, como el hipoparatiroidismo, el hipotiroidismo, el hipercortisolismo, algunas alteraciones esqueléticas asociadas a insuficiencia renal avanzada o el tratamiento con fármacos antirresortivos (bisfosfonatos o denosumab). Para ser activa, la molécula de la FA requiere la unión de algunos cofactores, por lo que el déficit de cationes como el zinc, el magnesio o el calcio puede asociarse también a una disminución de su actividad sérica (1).

Si se excluyen esas causas adquiridas, cabe pensar que la causa del descenso de la FA sea genética. Entre las enfermedades hereditarias que cursan con FA baja se encuentran la displasia cleidocraneal y la enfermedad de Wilson. Las alteraciones de las clavículas y del hígado, respectivamente, suelen permitir enfocar correctamente el diagnóstico de estos raros trastornos (Tabla I). Si los datos clínicos y analíticos no apoyan esos diagnósticos y tampoco se identifica una causa secundaria adquirida, cabe pensar que la FA sérica baja indique que el paciente padece una hipofosfatasia (HPP) en relación con una mutación en el gen *ALPL*, que codifica la FA no específica de tejido (FANET), que incluye las isoformas hepática y ósea. Estas isoformas, codificadas por el mismo gen, comparten la secuencia de aminoácidos, si bien difieren en algunas modificaciones postraduccionales, como el patrón de glicosilación.

Sin embargo, cuando se secuencian las regiones codificantes del gen *ALPL*, solo se observan variantes en alrededor del 60 % de los pacientes con FA baja (2). En los demás casos, la causa de la FA baja permanece oscura. Quizás esa disminución esté relacionada con otros cambios genómicos o epigenómicos o con variaciones postraduccionales de la proteína (3).

Un parámetro útil para confirmar la deficiencia de FA es la determinación de fosfato de piridoxal 5 (PLP) en plasma. Este constituye la principal forma circulante de vitamina B_6 y es hidrolizado por la FA, de manera que, cuando la actividad de la FA es deficiente, los niveles de PLP aumentan. Hay que tener en cuenta que los niveles de PLP dependen del aporte de vitamina B_6 . Por tanto, pueden aumentar si el paciente está recibiendo suplementos vitamínicos. Al contrario, sus niveles pueden ser normales o incluso bajos, aunque el paciente tenga una deficiencia de FA, si presenta un déficit asociado de vitamina B_6 (4), de ahí que la determinación de PLP no sea un test diagnóstico perfecto; aun así, puede ser de mucha ayuda, en especial si no es posible secuenciar el gen *ALPL*.

Las variantes patogénicas del gen *ALPL* dan lugar a HPP, un trastorno con un espectro clínico variado. Las formas infantiles suelen ser graves con un cuadro florido de raquitismo, pues la FA es necesaria para la mineralización ósea. En adultos, las manifestaciones suelen ser mucho más leves. A menudo se manifiestan como fracturas de estrés, condrocalcinosis, tendinopatías o alteraciones dentarias (5,6). Algunos pacientes pueden estar totalmente asintomáticos, por lo que a veces es difícil separar los casos con manifestaciones leves de los que son simplemente “portadores asintomáticos” de la variante genética. Así, el diagnóstico de HPP re-

Tabla I. Causas de disminución persistente de la fosfatasa alcalina sérica	
Adquiridas	
<i>Hormonales</i>	
Hipoparatiroidismo	
Hipotiroidismo	
Hipercortisolismo	
<i>Fármacos</i>	
Bisfosfonatos	
Denosumab	
Corticoides	
Clofibrato	
Vitamina D (intoxicación)	
<i>Nutricionales</i>	
Malnutrición global	
Deficiencias vitamínicas (C y B_{12})	
Deficiencias minerales (calcio, zinc y magnesio)	
<i>Otras enfermedades</i>	
Celiaquía	
Mieloma múltiple	
Insuficiencia renal avanzada	
Genéticas	
Hipofosfatasia	
Displasia cleidocraneal	
Enfermedad de Wilson	
Acrodermatitis enteropática	
Hemocromatosis	

quiere la integración de datos clínicos, bioquímicos y genéticos, como hemos revisado recientemente (3). En todo caso, se debe ser cuidadoso con el uso de antirresortivos (en particular, bisfosfonatos) en estos pacientes, pues se ha sugerido (aunque no se ha demostrado claramente) que pueden presentar un mayor riesgo de fracturas atípicas (7).

El tratamiento de los pacientes con HPP con manifestaciones moderadas, como ocurre generalmente en los casos de inicio en la edad adulta, es generalmente sintomático. Sin embargo, en los casos con manifestaciones graves, y en particular en niños y adolescentes, puede estar indicado el tratamiento de reemplazo enzimático con asfotasa alfa, una glicoproteína soluble de 726 aminoácidos obtenida por ingeniería celular que combina la parte activa de la FANET, el dominio Fc de la IgG1 humana y un dominio peptídico deca aspartato (8,9). Se han sugerido algunos criterios para su indicación en adultos (10), y algunos estudios con pequeños grupos de pacientes han ofrecido resultados prometedores (11), aunque su papel tras la finalización del crecimiento está menos establecido.

FOSFATASA ALCALINA E HIPOFOSFATASIA: MECANISMOS MOLECULARES

El gen *ALPL* codificante de FANET está localizado en el cromosoma 1p34-36 (12) y se expresa en diferentes tipos de tejidos, como los huesos, el hígado y el riñón (13). La FANET es una ectoenzima que se une a la membrana plasmática a través de una molécula de anclaje de glicosilfosfatidilinositol (GPI) (12). Su función principal es catalizar la hidrólisis de fosfomonoésteres (14), como el PLP, el pirofosfato inorgánico (PPi), el trifosfato de adenosina (ATP), el lipopolisacárido (LPS) difosforilado y la osteopontina fosforilada (p-OPN), con liberación de fosfato inorgánico (12,15-17). La FANET necesita dos iones Zn^{2+} y un ion Mg^{2+} para constituirse como homodímero (18) y desarrollar de forma correcta su función (19).

En cuanto a la genética de la HPP, se ha demostrado que el gen *ALPL* tiene una gran heterogeneidad alélica (12). Según las bases de datos de variantes de *ALPL* (<https://alplmutationdatabase.jku.at>) y *LOVD* (<https://databases.lovd>), se han descrito unas 500 variantes de pérdida de función del gen *ALPL* (20). Esta gran heterogeneidad alélica está relacionada con una expresión clínica de HPP muy variable (20,21), lo que ha dado lugar a la clasificación de la HPP en diferentes formas clínicas. Desde las más graves a las más leves: HPP perinatal letal, HPP del lactante, HPP infante-juvenil, HPP del adulto, odontohipofosfatasa y HPP prenatal benigna (22,23).

La HPP puede heredarse de manera autosómica dominante o recesiva. Los fenotipos clínicos más graves se

transmiten como un rasgo autosómico recesivo, mientras que las formas más leves pueden ser el resultado de una transmisión recesiva o dominante. Sin embargo, pueden encontrarse casos de HPP del adulto con mutación de sólo un alelo y fenotipo más grave. Estos casos podrían explicarse por la presencia de otras mutaciones intrónicas o en la secuencia reguladora o por la existencia de una mutación heterocigota que tenga un efecto negativo dominante (24,25). Esto puede llevar a una disminución de la actividad del monómero de tipo salvaje en el complejo enzimático heterodimérico, lo que modifica las propiedades estructurales y funcionales de la FANET. Aproximadamente el 13,4 % de los alelos identificados en pacientes con HPP tienen un efecto negativo dominante en la población europea (26). El examen del modelo tridimensional de FANET revela que la proteína consta de cinco áreas distintas: el sitio activo (que incluye los tres puntos de unión a metales), la zona de unión al homodímero, el dominio corona (implicado en funciones como la inhibición no competitiva, la estabilidad térmica, el comportamiento alostérico, la estabilidad del dímero y la unión al colágeno), el dominio de unión al calcio (cuya función aún no se comprende completamente) y la hélice alfa N-terminal (que contribuye a la estabilidad de la estructura dimérica). La mayoría de las mutaciones que han demostrado tener un efecto negativo dominante medible experimentalmente se encuentran en la región de unión al homodímero, el sitio activo y el dominio corona (20).

Como se ha descrito anteriormente, puede ser difícil la interpretación de los casos con la FA persistentemente baja sin identificación de variantes patogénicas en el gen *ALPL*. Cabe señalar que, además de las ya comentadas, existen otras situaciones menos comunes que también pueden disminuir la formación ósea y, por tanto, asociarse a niveles bajos de FA. Así, el hierro y la ferritina se han mostrado como potentes inhibidores de la osteogénesis, inhibiendo significativamente la actividad de la FA. Se piensa que la actividad ferroxidasa de la ferritina es el elemento central de esta inhibición (27). Por otra parte, existen otros factores implicados en la regulación de la FA, como el factor de transcripción RUNX2 (28), así como otros factores reguladores de los niveles de Pi, como PHOSPHO1 o ENPP1, que actúa como fosfatasa en ausencia de FANET (1). En este contexto, no puede excluirse la existencia de otros genes modificadores relacionados con el desarrollo de manifestaciones clínicas heterogéneas en los pacientes con niveles disminuidos de FA. Adicionalmente, las modificaciones epigenéticas podrían contribuir al grado de severidad de las manifestaciones clínicas en los pacientes con HPP. En esta línea, se ha demostrado que la metilación del ADN desempeña una función importante en la regulación de la expresión de *ALPL* (29). Asimismo, diferentes estilos de vida o comportamientos parecen tener un efecto directo en los niveles de FA. Así, la actividad física se ha relacionado directamente con el aumento de los niveles de FA (30,31).

Por lo tanto, para el estudio del fenotipo asociado a HPP, parecería razonable explorar el papel de estos factores reguladores, así como la contribución de factores externos, como el estilo de vida. En cualquier caso, en pacientes con clínica y bioquímica compatibles con HPP, sería interesante realizar la secuenciación completa del genoma para identificar posibles mutaciones en las regiones reguladoras o no codificantes del gen *ALPL*, así como posibles mutaciones en otros genes reguladores de la actividad FA. Además, sería conveniente realizar estudios funcionales que permitan la caracterización de cada variante genética para explorar la relación con fenotipos concretos con el objetivo de conocer con mayor certeza los posibles efectos de estas variantes en el paciente portador. Aunque es difícil establecer una correlación genotipo-fenotipo en pacientes con HPP, la correcta identificación de nuevas variantes y el estudio de su fenotipo permitiría mejorar el conocimiento de este trastorno metabólico, lo que permitiría un mejor manejo de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

- Liedtke D, Hofmann C, Jakob F, Klopocki E, Graser S. Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase-A Gatekeeper of Physiological Conditions in Health and a Modulator of Biological Environments in Disease. *Biomolecules* 2020;10(12):1648. DOI: 10.3390/biom10121648
- Riancho-Zarrabeitia L, García-Unzueta M, Tenorio JA, Gómez-Gerique JA, Ruiz Pérez VL, Heath KE, et al. Clinical, biochemical and genetic spectrum of low alkaline phosphatase levels in adults. *Eur J Intern Med* 2016;29:40-5. DOI: 10.1016/j.ejim.2015.12.019
- Riancho JA. Diagnostic Approach to Patients with Low Serum Alkaline Phosphatase. *Calcif Tissue Int* 2023;112(3):289-96. DOI: 10.1007/s00223-022-01039-y
- Whyte MP, Zhang F, Wenkert D, Mack KE, Bijanki VN, Ericson KL, et al. Hypophosphatasia: Vitamin B₆ status of affected children and adults. *Bone* 2022;154:116204. DOI: 10.1016/j.bone.2021.116204
- Bianchi ML, Bishop NJ, Gualiabens N, Hofmann C, Jakob F, Roux C, et al. Hypophosphatasia in adolescents and adults: overview of diagnosis and treatment. *Osteoporos Int*. 2020;31(8):1445-60. DOI: 10.1007/s00198-020-05345-9
- Mornet E. Hypophosphatasia. *Metabolism* 2018;82:142-55.
- Rassie K, Dray M, Michigami T, Cundy T. Bisphosphonate Use and Fractures in Adults with Hypophosphatasia. *JBM Plus* 2019;3(10):e10223. DOI: 10.1002/jbm4.10223
- Whyte MP, Simmons JH, Moseley S, Fujita KP, Bishop N, Salman NJ, et al. Asfotase alfa for infants and young children with hypophosphatasia: 7-year outcomes of a single-arm, open-label, phase 2 extension trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2019;7(2):93-105. DOI: 10.1016/S2213-8587(18)30307-3
- Whyte MP, Greenberg CR, Salman NJ, Bober MB, McAlister WH, Wenkert D, et al. Enzyme-replacement therapy in life-threatening hypophosphatasia. *N Engl J Med* 2012;366(10):904-13. DOI: 10.1056/NEJMoa1106173
- Khan AA, Josse R, Kannu P, Villeneuve J, Paul T, Van Uum S, et al. Hypophosphatasia: Canadian update on diagnosis and management. *Osteoporos Int*. 2019;30(9):1713-22. DOI: 10.1007/s00198-019-04921-y
- Kishnani PS, Rockman-Greenberg C, Rauch F, Bhatti MT, Moseley S, Denker AE, et al. Five-year efficacy and safety of asfotase alfa therapy for adults and adolescents with hypophosphatasia. *Bone* 2019;149-62. DOI: 10.1016/j.bone.2018.12.011
- Greenberg CR, Evans JA, McKendry-Smith S, Redekopp S, Haworth JC, Mulivor R, et al. Infantile hypophosphatasia: localization within chromosome region 1p36.1-34 and prenatal diagnosis using linked DNA markers. *Am J Hum Genet* 1990;46(2):286-92.
- Millán JL, Fishman WH. Biology of human alkaline phosphatases with special reference to cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1995;32(1):1-39. DOI: 10.3109/10408369509084680
- Schwartz JH, Lipmann F. Phosphate incorporation into alkaline phosphatase of *E. coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1961;47(12):1996-2005. DOI: 10.1073/pnas.47.12.1996
- Millán JL, Whyte MP. Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia. *Calcif Tissue Int* 2016;98(4):398-416. DOI: 10.1007/s00223-015-0079-1
- Narisawa S, Yadav MC, Millán JL. In vivo overexpression of tissue-nonspecific alkaline phosphatase increases skeletal mineralization and affects the phosphorylation status of osteopontin. *J Bone Miner Res* 2013;28(7):1587-98. DOI: 10.1002/jbmr.1901
- Pettengill M, Matute JD, Tresenriter M, Hibbert J, Burgner D, Richmond P, et al. Human alkaline phosphatase dephosphorylates microbial products and is elevated in preterm neonates with a history of late-onset sepsis. *PLoS One* 2017;12(4):e0175936. DOI: 10.1371/journal.pone.0175936
- Whyte MP. Hypophosphatasia - aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol* 2016;12(4):233-46. DOI: 10.1038/nrendo.2016.14
- Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline Phosphatase: An Overview. *Indian J Clin Biochem* 2014;29(3):269-78. DOI: 10.1007/s12291-013-0408-y
- Villa-Suárez JM, García-Fontana C, Andújar-Vera F, González-Salvatierra S, de Haro-Muñoz T, Contreras-Bolívar V, et al. Hypophosphatasia: A Unique Disorder of Bone Mineralization. *Int J Mol Sci* 2021;22(9):4303. DOI: 10.3390/ijms22094303
- Mornet E, Stura E, Lia-Baldini AS, Stigbrand T, Ménez A, Le Du MH. Structural Evidence for a Functional Role of Human Tissue Nonspecific Alkaline Phosphatase in Bone Mineralization. *J Biol Chem* 2001;276(33):31171-8. DOI: 10.1074/jbc.M102788200
- Fraser D. Hypophosphatasia. *Am J Med* 1957;22:730-46.
- Whyte MP, Zhang F, Wenkert D, McAlister WH, Mack KE, Benigno MC, et al. Hypophosphatasia: validation and expansion of the clinical nosology for children from 25 years experience with 173 pediatric patients. *Bone* 2015;75:229-39. DOI: 10.1016/j.bone.2015.02.02
- Mornet E. Hypophosphatasia. *Metabolism* 2018;82:142-55. DOI: 10.1016/j.metabol.2017.08.013
- Fauvert D, Brun-Heath I, Lia-Baldini A-S, Bellazi L, Taillandier A, Serre J-L, et al. Mild forms of hypophosphatasia mostly result from dominant negative effect of severe alleles or from compound heterozygosity for severe and moderate alleles. *BMC Med Genet* 2009;10:51. DOI: 10.1186/1471-2350-10-51
- Mornet E, Yvard A, Taillandier A, Fauvert D, Simon-Bouy B. A Molecular-Based Estimation of the Prevalence of Hypophosphatasia in the European Population. *Ann Hum Genet* 2011;75:439-45.

27. Zarjou A, Jeney V, Arosio P, Poli M, Zavaczki E, Balla G, et al. Ferritin ferroxidase activity: a potent inhibitor of osteogenesis. *J Bone Miner Res* 2010;25(1):164-72. DOI: 10.1359/jbmr.091002
28. Otto F, Thornell AP, Crompton T, Denzel A, Gilmour KC, Rosewell IR, et al. *Cbfa1*, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell* 1997;89(5):765-71. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80259-7
29. Delgado-Calle J, Sañudo C, Sánchez-Verde L, García-Renedo RJ, Arozamena J, Riancho JA. Epigenetic regulation of alkaline phosphatase in human cells of the osteoblastic lineage. *Bone* 2011;49(4):830-8. DOI: 10.1016/j.bone.2011.06.006
30. Kish K, Mezil Y, Ward WE, Klentrou P, Falk B. Effects of plyometric exercise session on markers of bone turnover in boys and young men. *Eur J Appl Physiol* 2015;115(10):2115-24. DOI: 10.1007/s00421-015-3191-z
31. Marędziak M, Śmieszek A, Chrzęstek K, Basinska K, Marycz K. Physical Activity Increases the Total Number of Bone-Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells, Enhances Their Osteogenic Potential, and Inhibits Their Adipogenic Properties. *Stem Cells Int* 2015;2015:379093. DOI: 10.1155/2015/379093