

NOTA TÉCNICA

Isoenzima de fosfatasa alcalina *placental-like*, importancia clínica como marcador en tumores de tipo germinal

Juan Antonio Vílchez Aguilera^{a,*}, Francisco Avilés Plaza^a,
Juan F. Martínez-Lage Sánchez^b, Pedro Martínez Hernández^a
y Soledad Parra Pallarés^{a,*}

^a Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

^b Servicio de Neurocirugía, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

Recibido el 11 de abril de 2011; aceptado el 20 de septiembre de 2011

Disponible en Internet el 3 de diciembre de 2011

PALABRAS CLAVE

PLAP-like;
Germinoma;
Teratoma

KEYWORDS

PLAP-like;
Germinoma;
Teratoma

Resumen

Fundamento y objetivo: Justificar la importancia clínica de la determinación del isoenzima de fosfatasa alcalina (PLAP-like) como marcador en tumores de células germinales (TCG).

Pacientes y métodos: Se documentan dos casos clínicos observando el comportamiento de este isoenzima: 1) Niño con germinoma intracraneal en región pineal, 75% de actividad de PLAP-like al inicio (valor normal: 0%), resto de marcadores tumorales negativos, y 2) Niña con teratoma inmaduro de ovario estadio I, elevación de la alfafetoproteína (AFP), 197 ng/mL; PLAP-like 5,1% al inicio y 0,7% en recidiva tumoral tras dos años. Se determina PLAP-like valorando la actividad remanente tras termodesnaturalización sérica.

Discusión y conclusiones: PLAP-like se comporta como único marcador específico en el primer caso de tumor germinal pineal que justifica su utilidad junto a pruebas de imagen en el diagnóstico de tumores de localización craneal. En el seguimiento, también es crítico el análisis dado que constata la buena respuesta al tratamiento en el primer caso, y en el segundo caso clínico, es el único marcador que complementa la valoración de la recidiva. Concluimos en la relevancia del análisis de este isoenzima como marcador complementario en TCG.

© 2011 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Clinical relevance of placental-like alkaline phosphatase isoenzyme as a germ cell tumour marker

Abstract

Background and purpose: To determine the clinical relevance of placental-like alkaline phosphatase isoenzyme (PLAP-like) as a marker for germ cell tumours (GCT).

Patients and methods: We report the behaviour of this isoenzyme in two patients; 1) A Child with an intracranial germinoma in the pineal region who showed 75% of PLAP-like activity at onset (normal value: 0%), with the rest of the tumour markers being negative, and

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: juanav81@hotmail.com (J.A. Vílchez Aguilera), soledadparrapallares@gmail.com (S. Parra Pallarés).

2) A girl with a stage I ovarian immature teratoma who had an elevated alpha-fetoprotein (AFP), 197 ng/mL, PLAP-like 5.1%, at onset and 0.7% at tumour recurrence two years later. PLAP-like was determined by assessing the remaining activity after heat denaturation of the serum.

Discussion and conclusions: PLAP-like constituted the only specific marker in the case of the pineal cell germ tumour, which justifies its use in association with neuroimaging studies in the diagnosis of cranial tumours. At follow-up analysis, PLAP-like was also critical since it confirmed the good response to treatment in the first case, while in the second one, it was the only marker to complement the assessment of tumour recurrence. We believe that this isoenzyme analysis is of relevance as a complementary marker in GCT.

© 2011 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La fosfatasa alcalina (ALP) es una enzima dimérica unida a la membrana celular por grupos glicosilfosfatidilinositol; la acción de fosfolipasas específicas tiene la capacidad de liberar ALP libre al suero^{1,2}. ALP consiste en una familia de 4 isoenzimas: 1) isoenzima no específica de tejido (TNSAP): hígado/hueso/riñón, siendo la mayoritaria en proporción al resto; 2) Intestinal; 3) Placentaria (PLAP, o hPLAP en el caso de la placenta humana), y 4) De células germinales (PLAP-like) conocida como isoenzima de Reagan, Nagao o Kasahara, forma oncofetal o carcinoembrionaria; ambas estables a 65 °C y presentan homología del 98% entre sí, mientras que las isoenzimas TNSAP e intestinal presentan un 88 y 56% respectivamente de homología con PLAP^{3,4}.

La isoenzima PLAP-like es sintetizada principalmente en los testículos, cuello uterino y timo y en menor cantidad en otros tejidos como la placenta y el pulmón⁵. En adultos sanos no fumadores, las actividades enzimáticas de PLAP y PLAP-like representarían prácticamente un 0% de toda la ALP⁶. En el embarazo, hábitos como fumar tabaco, pueden provocar elevaciones de la isoenzima PLAP-like, pudiendo disminuir su valor como marcador tumoral, si bien retorna a la normalidad después de 1-2 meses de abandonar el hábito de fumar⁷.

La utilidad clínica de las isoenzimas de ALP recae en el diagnóstico diferencial de órgano-especificidad en el caso de un resultado elevado⁸. La expresión ectópica de la isoenzima PLAP-like puede estar asociada al cáncer de pulmón, ovario, útero y tumores de origen germinal como cáncer testicular: neoplasia intratubular de células germinales sin clasificar (IGCNU), seminoma, carcinoma embrionario y coriocarcinoma⁹. Se han encontrado concentraciones séricas elevadas de PLAP y PLAP-like en el 25-65% de los pacientes con cáncer de ovario¹⁰, y en un 22-89% de los pacientes con neoplasias testiculares^{7,11,12}. También es conocida su importancia en otros tipos de tumores como pulmón o cáncer colorrectal avanzado¹³.

La información que nos ofrecen las pruebas de imagen como tomografía computarizada (TC) o resonancia magnética nuclear (RMN) y una buena interpretación de los marcadores tumorales asociados, es de gran importancia al inicio del tratamiento de pacientes aquejados de tumores de células germinales (TCG), debido a la condición de éstos, de ser radio y quimiosensibles y presentar una buena

respuesta^{9,14,15}. Este tipo de tumores producen un aumento de marcadores como alfafetoproteína (AFP) en tumores del seno endodérmico, carcinoma embrionario y ocasionalmente en teratomas. La subunidad β -libre de gonadotropina coriónica humana (β hCG) se eleva en el 100% de los coriocarcinomas y en un 10% de germinomas (tabla 1)¹⁰⁻¹².

Los marcadores deben de ser valorados con precaución y el diagnóstico diferencial no basarse en su presencia o ausencia, puesto que algunos tumores pueden no producirlos o, por el contrario, tener un componente celular mixto^{7,16} e incluso en recidivas tumorales expresar otro tipo de marcador que evidencie un cambio histológico de la recidiva frente al tumor primario¹⁷. Dado que la PLAP-like es un parámetro poco solicitado y poco determinado en los centros hospitalarios, el objetivo de este estudio es resaltar mediante dos casos clínicos la importancia de la medición de PLAP-like como marcador tumoral complementario, especialmente en TCG.

Material y métodos

Caso 1

Niño de 6 años, que debido a cefalea, alteración del sueño, vómitos, visión doble, así como estrabismo, acude

Tabla 1 Positividad de los marcadores en TCG

Tumores de células germinales	β HCG	AFP	PLAP-like
Seminoma	10-20%	(-)	60-80%
Carcinoma embrionario	80%	75%	(+)
Teratoma	25%	37%	(-)
Teratoma maduro	(-)	(-)	Sd
Teratoma inmaduro	(-)	(+)	(+)
Coriocarcinoma	100%	(-)	(+)
Germinoma	10%	(-)	(+)
Tumor del seno endodérmico	(-)	95-100%	(-)

Fuente: Tomada de Koshida et al.¹², Ind¹⁶ y Parra Pallarés et al.²⁰.

AFP: alfafetoproteína; β HCG: subunidad β -libre de gonadotropina coriónica humana; PLAP-like: isoenzima de fosfatasa alcalina *placental-like*; (+): positivo; (-): negativo; Sd: sin datos.

al oftalmólogo que detecta un edema de papila y deriva a Neuropediatría en julio de 2001.

Antecedentes familiares: presenta numerosos casos de familiares directos diagnosticados de diferentes tipos de cáncer en edades avanzadas.

Examen físico: buen estado general. SNC: consciente y orientado. Midriasis arreactiva izquierda. Fondo de ojo: edema de papila bilateral.

Informe de laboratorio: el estudio de marcadores tumorales al inicio aportó los siguientes resultados: β HCG 0 U/L; alfafetoproteína (AFP): 0,9 ng/mL (valores de referencia [VR] < 11); CEA: 1,4 ng/mL (VR: 0-5); ALP: 628 U/L (VR: 40-129). Isoenzimas de ALP: ALP ósea: 17%; ALP hepática 8%; PLAP-like: 75% (normal: 0%).

Exámenes complementarios: TC craneal: se le detecta masa hiperdensa con calcificaciones en región pineal que provoca hidrocefalia secundaria a obstrucción del acueducto de Silvio. En la RMN presenta un proceso expansivo en región pineal de 3 x 2 cm. La lesión comprime el tectum mesencefálico provocando importante hidrocefalia obstructiva. Se repite RMN ampliada a columna presentando una morfología e intensidad de señal de médula espinal normales en todo su recorrido. Se diagnostica de «germinoma intracraneal en región pineal» que provoca a su vez hidrocefalia triventricular obstructiva.

Evolución: el paciente es sometido a intervención neuroquirúrgica con ventriculostomía del tercer ventrículo y comunicación del mismo a cisterna basilar para disminuir la hidrocefalia al poco tiempo del diagnóstico, presentando un postoperatorio sin complicaciones. Comienza quimioterapia (QT) con protocolo «SIOP CNS GCT 96»: carboplatino, etopósido e ifosfamida. Como complicaciones presentó paresia del tercer par craneal izquierdo. Tras 4 meses de QT el tumor remitió completamente.

Caso 2

Niña de 6 años que ingresa en 2004 por masa abdominal a estudio y es citada para intervención quirúrgica. Al examen físico presenta buen estado general. Se observa masa en línea media en hipogastrio y mesogastrio llegando a fosa ilíaca izquierda, de unos 12 x 12 cm. No megalias. Genitales femeninos normales.

Informe de laboratorio: marcadores tumorales al inicio: β HCG 0 UI/L (VR < 5); AFP: 197 ng/mL (VR < 11); enolasa (NSE) 40 ng/mL (VR < 15); LDH 614 U/L (VR: 230-460); ALP 246 U/L (VR: 40-129); PLAP-like 5,1% (VR 0%). Catecolaminas en orina normales.

Exámenes complementarios: TC pulmonar normal. Gammagrafía con Tc99 negativo.

Actitud y evolución: se realiza laparotomía media infraumbilical. Se aprecia gran tumoración dependiente de ovario izquierdo, con una zona de protusión en la que se encuentra adherido el epiplón. La trompa, ovario derecho y útero presentan aspecto normal. Se diagnostica de «teratoma ovárico inmaduro grado III, estadio I» («FIGO») tras realización de resección ovárica izquierda completa. No requiere QT. La paciente presenta disminución progresiva de los marcadores tumorales hasta normalizarse y pruebas de imagen negativas tras la resección. Tras dos años (en julio de 2006) acude a urgencias por dolor abdominal,

se somete a ecografía en la que se observa masa sólido-quística con contenido líquido mucinoso próximo a la cola del páncreas sin vascularización.

En el estudio de marcadores tumorales presenta β HCG 0 UI/L, AFP 2 ng/mL y PLAP-like 0,7%, siendo éste el único marcador positivo en la recidiva. Se realiza laparotomía media supraumbilical y exéresis de la masa tumoral intraabdominal aparentemente bien encapsulada sin depender de órganos vecinos, la cual hay que descartar como primera posibilidad de ser recidiva del teratoma previo. No precisa QT.

Métodos

Determinación de isoenzimas de fosfatasa alcalina

Se determinó la actividad sérica de ALP total en un analizador Cobas® 6000 (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania).

Los isoenzimas que contribuyen a la actividad total de ALP, se identifican por electroforesis en gel de agarosa (SAS-I Alkaline Phosphase-12, Helena®, BioSciences Europe, Sunderland); este procedimiento en combinación con métodos químicos (neuraminidasa) permite identificar las fracciones intestinal, ósea y hepática. Los resultados, cuantificados por densitometría, se expresan como porcentaje de la fracción de isoenzima respecto a la actividad de fosfatasa alcalina total. Los valores de referencia por esta combinación de métodos son: isoenzima ósea (25-51,5%), isoenzima hepática (30,1-85,7%), isoenzima intestinal (0-5%), isoenzima *placental-like* (0%)¹⁸.

Dado que PLAP y PLAP-like presentan movilidad electroforética similar a la isoenzima ósea y ambas son la únicas que resisten la termodesnaturalización a 65 °C, durante 30 minutos se somete una alícuota de suero a este método para calcular la actividad remanente de ALP correspondiente al porcentaje de ALP tumoral, forma oncofetal o carcinoembrinaria^{18,19}.

Discusión

Observamos mediante estos casos clínicos varios aspectos de la interpretación de PLAP-like como marcador tumoral en TCG. En el primer caso y debido a la localización intracraneal profunda y vascularización intrínseca tumoral, la biopsia de este tipo de tumores puede ser de mayor riesgo que las biopsias estereotáxicas de otros tipos de tumores en otras regiones. Por tanto, el valor de la prueba de imagen (TC o RMN) e interpretación de marcadores tumorales asociados, es definitivo para comenzar el tratamiento de estos pacientes, al ser tumores radio y quimiosensibles^{9,14,15}. En tumores de origen pineal, podemos encontrar ciertos marcadores, β HCG, CEA y AFP normales, como ocurre en este caso, mientras que ALP total y su isoenzima tumoral están elevadas (PALP-like 75% de actividad). Puede ser por tanto, el único marcador específico en este tipo de tumores germinales de localización pineal y complementa la clasificación de tumores de localización craneal^{20,21}. En el seguimiento, la disminución de los marcadores indica la buena respuesta al tratamiento ya sea radio o quimioterapia como es en nuestro caso, presentando remisión del tumor (fig. 1); esta gráfica permite observar el seguimiento de ALP total y PALP-like. El paciente presentó picos de la isoenzima PLAP-like que

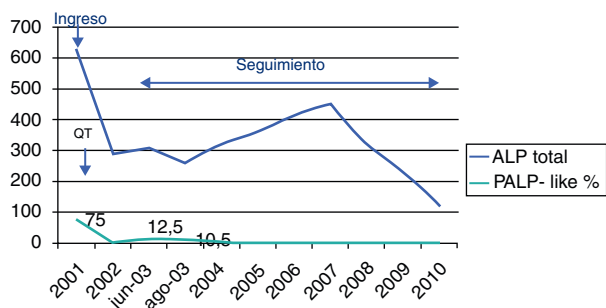


Figura 1 Fosfatasa alcalina total y PLAP-like, evolución desde el ingreso y comienzo del tratamiento en 2001. A partir de 2002, se le hacen controles del marcador, que aunque presentan picos de la isoenzima PLAP-like no se le asoció repercusión clínica alguna.

no tuvieron repercusión clínica, mientras que la ALP total presentó valores alternados y más bajos de lo normal en el seguimiento hasta la actualidad, por la edad del paciente y atribuibles probablemente a la afección de los tratamientos quimioterápicos en el desarrollo óseo del niño o a un tallaje bajo del niño.

En cuanto al segundo caso, la valoración de los distintos marcadores al debut y en la recidiva fueron diferentes. En el teratoma inmaduro de ovario diagnosticado al ingreso, fue la AFP el principal marcador junto al PLAP-like, mientras que en la recidiva fue la isoenzima PLAP-like el único positivo que permitió junto al resto de pruebas complementar el diagnóstico. Vemos la ventaja de su medición en el seguimiento, ya que esta recidiva tuvo un comportamiento histológico diferente al considerarse un tumor germinal extragonadal, y la valoración de marcadores es diferente (fig. 2)¹⁷. Además, observamos un comportamiento dudoso de enolasa (NSE), que podría considerarse elevada aunque los picos podrían atribuirse a posibles falsos positivos por hemólisis. La cuestión importante de clasificar los teratomas ováricos como maduros o inmaduros es discutida. Los teratomas

son tumores compuestos por elementos que representan las tres capas germinales y se dividen en subtipos maduros o inmaduros en función de los elementos constitutivos¹⁶.

En este punto, también la valoración de marcadores es complementaria. Así, en la tabla 1 se encuentra el porcentaje de positividad de los marcadores en cada uno de los TCG, que además de ayudar al diagnóstico, determinan el riesgo de recaída, ya que si la AFP o β HCG, o ambas, permanecen elevadas después del tratamiento, hay un riesgo de progresión del 70%, contrario a si se normalizan disminuyendo este riesgo al 7%²². Si bien más del 90% de los tumores no seminoma presentan elevada la AFP o la β HCG, la alteración no es igual para cada uno de los tumores⁷.

Los TCG derivan de las células germinales primordiales, que en la vida embrionaria migran desde el sistema nervioso central primitivo hasta localizarse en las gónadas. Se cree que un bloqueo en la maduración de las células germinales, iniciado desde la vida fetal, e inducido posiblemente por alteraciones en el microambiente celular pueda originarlos, con una presentación masculina en el 90% de los casos, pudiendo causar también neoplasias ováricas²³. Su incidencia se ha duplicado en los últimos 40 años con un incremento anual del 3 al 6%, posiblemente por edad materna avanzada y por la teoría que postula un posible efecto carcinogénico de sustancias similares a estrógenos y antiandrógenos tanto en la vida fetal como durante la primera infancia^{24,25} y que se conocen como disruptores endocrinos. Generalmente predominan los germinomas y teratomas, mientras que del 2% que corresponden a neoplasias intracraneales, predominan los tumores de la región pineal (51%) y supraselar (30%), habiendo localizaciones menos frecuentes como sacro, tiroides, senos paranasales y tejidos blandos de cabeza y cuello²³⁻²⁵. De todos modos, se necesitan más estudios concluyentes que corroboren dichas teorías.

Nuestro estudio no muestra una casuística amplia, en cambio, muestra dos ejemplos de comportamiento diferente del isoenzima PLAP-like como marcador tumoral, en el diagnóstico y seguimiento de recidivas. Con estos dos casos podemos observar comportamientos y valores diferentes de

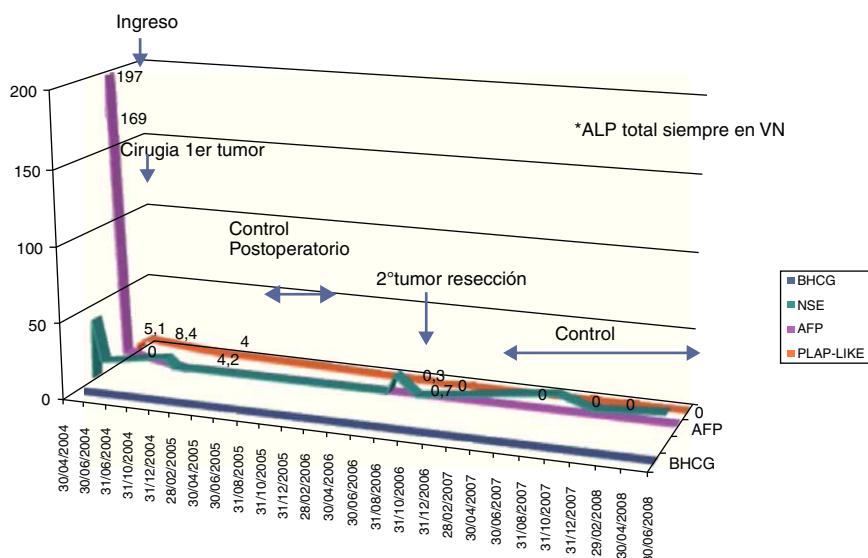


Figura 2 Monitorización del seguimiento de marcadores tumorales en el caso 2.

PLAP-like, como por ejemplo las elevaciones sin repercusión clínica en el primer caso de alrededor del 10%, mientras que en el segundo caso en el que la interpretación clínica de marcadores es más confusa, un valor mucho menor y único marcador elevado, apoyaría al resto de pruebas a concluir en un diagnóstico. Por todo ello, podemos concluir la relevancia que proporciona la determinación analítica de PLAP-like como un marcador complementario valorable en el diagnóstico y seguimiento de TCG, siendo muy recomendable y estando clínicamente justificada la solicitud de éste parámetro en este tipo de tumores.

Bibliografía

1. Lehto MT, Sharom FJ. Proximity of the protein moiety of a GPI-anchored protein to the membrane surface: a FRET study. *Biochemistry*. 2002;41:8368-76.
2. Moss DW. Perspectives in alkaline phosphatase research. *Clin Chem*. 1992;38:2486-92.
3. Harris H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta*. 1990;186:133-50.
4. Le Du MH, Stigbrand T, Taussig MJ, Menez A, Stura EA. Crystal structure of alkaline phosphatase from human placenta at 1.8 Å resolution. Implication for a substrate specificity. *J Biol Chem*. 2001;276:9158-65.
5. Hustin J, Collette J, Franchimont P. Immunohistochemical demonstration of placental alkaline phosphatase in various states of testicular development and in germ cell tumours. *Int J Androl*. 1987;10:29-35.
6. Hirano K, Matsumoto H, Tanaka T, Hayashi Y, Iino S, Domar U, et al. Specific assays for human alkaline phosphatase isozymes. *Clin Chim Acta*. 1987;166:265-73.
7. Weissbach L, Bussar-Maatz R, Mann K. The value of tumor markers in testicular seminomas. Results of a prospective multicenter study. *Eur Urol*. 1997;32:16-22.
8. Young D, Friedman R. *Effects of Disease on Clinical Laboratory Test*. 3rd ed. Washington: AACCC Press; 1997.
9. Nouri AM, Torabi-Pour N, Dabare AA. A new highly specific monoclonal antibody against placental alkaline phosphatase: a potential marker for the early detection of testis tumour. *BJU Int*. 2000;86:894-900.
10. Ind T, Iles R, Shepherd J, Chard T. Serum concentrations of cancer antigen 125, placental alkaline phosphatase, cancer-associated serum antigen and free beta human chorionic gonadotrophin as prognostic markers for epithelial ovarian cancer. *Br J Obstet Gynaecol*. 1997;104:1024-9.
11. Koshida K, Uchibayashi T, Yamamoto H, Hirano K. Significance of placental alkaline phosphatase (PLAP) in the monitoring of patients with seminoma. *Br J Urol*. 1996;77:138-42.
12. Koshida K, Uchibayashi T, Yamamoto H, Yokoyama K, Hirano K. A potential use of a monoclonal antibody to placental alkaline phosphatase (PLAP) to detect lymph node metastases of seminoma. *J Urol*. 1996;155:337-41.
13. Cruz Tapias P, Villegas Gálvez V, Ramírez Clavijo S. Biological basis and clinical application of serum tumor markers. *Rev Cienc Salud Bogotá*. 2008;6:85-98.
14. Scheithauer BW. Neuropathology of pineal region tumors. *Clin Neurosurg*. 1985;32:351-83.
15. Satoh H, Uozumi T, Kiya K, Kurisu K, Arita K, Sumida M, et al. MRI of pineal region tumours: relationship between tumours and adjacent structures. *Neuroradiology*. 1995;37:624-30.
16. Ulbright TM. Germ cell tumors of the gonads: a selective review emphasizing problems in differential diagnosis, newly appreciated, and controversial issues. *Mod Pathol*. 2005;18 Suppl 2:S61-79.
17. Filella X, Molina R, Ballesta AM. Marcadores biológicos de cáncer. *Jano*. 2003;65(1500).
18. Parra Pallarés S. Isoenzimas de Fosfatasa Alcalina: Metodología y Significación Clínica en determinadas patologías [tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 1990.
19. Parra Pallarés S. Isoenzimas de Fosfatasa Alcalina: Fraccionamiento y cuantificación [tesina de licenciatura]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 1980.
20. Mori R, Nakajima M, Sakai H, Fukunaga M, Abe T. Pineal germinoma with a prominent epithelioid cell granuloma component: case report. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2008;48:573-5.
21. Miyanohara O, Takeshima H, Kaji M, Hirano H, Sawamura Y, Kochi M, et al. Diagnostic significance of soluble c-kit in the cerebrospinal fluid of patients with germ cell tumors. *J Neurosurg*. 2002;97:177-83.
22. Einhorn LH, Williams SD, Chamness A, Brame MJ, Perkins SM, Abonour R. High-dose chemotherapy and stem-cell rescue for metastatic germ-cell tumors. *N Engl J Med*. 2007;357:340-8.
23. Kristensen DM, Sonne SB, Ottosen AM, Perrett RM, Nielsen JE, Almstrup K, et al. Origin of pluripotent germ cell tumours: the role of microenvironment during embryonic development. *Mol Cell Endoc*. 2008;288:111-8.
24. Walsh TJ, Davies BJ, Croughan MS, Carroll PR, Turek PJ. Racial differences among boys with testicular germ cell tumors in the United States. *J Urol*. 2008;179:1961-5.
25. Sharp DS, Carver BS, Eggener SE, Kondagunta GV, Motzer RJ, Bosl GJ, et al. Clinical outcome and predictors of survival in late relapse of germ cell tumor. *J Clin Oncol*. 2008;26:5524-9.