

## MONITORAGGIO ENZIMATICO (H.S.A.P. - L.A.P.) NELLE NEOPLASIE GINECOLOGICHE

T. MAGGINO, A. D. TURCHETTO,  
S. VALENTE, P. GRELLA

Università degli studi di Padova  
Clinica Ostetrico-Ginecologica  
(Direttore: Prof. A. Onnis)

### SUMMARY

#### Enzymatic monitoring (H.S.A.P. and L.A.P.) in gynaecologic oncology.

The Leucinaminopeptidase (L.A.P.) and the thermally stable alkaline Phosphatase (H.S.A.P.) are often elevated in the serum of patients affected by various heteroplastic forms.

The evaluation of these enzymes in the serum of 60 patients with malignant gynaecological tumors and of 20 patients with benign pathology is here reported; the eventual correlation existing between clinical stage, therapy carried out, center of appearance, degree of tumor's anaplasia and H.S.A.P. and L.A.P. was also researched.

The incidence of the H.S.A.P.'s variation encountered was significant ( $p < 0,0,1$ ) in the malignant tumors compared to the not neoplastic pathology.

In reference to the L.A.P. the results obtained do not give a real meaning to this determination in the enzymatic monitoring of gynaecological neoplasms.

We believe that further contributions on the correlations between these enzymes and gynaecological neoplasms can be obtained by immunological and electrophoretic studies of the isoenzymes.

Negli ultimi anni sono state condotte numerose ricerche di carattere sierologico, immunologico, istochimico, radioimmunologico, per la definizione di un « marker » biologico della attività neoplastica, atto a monitorare le variazioni della responsività dei tumori alla terapia, la valutazione delle remissioni, il precoce depistage delle recidive ed, eventualmente, la diagnosi precoce di neoplasia maligna.

Nel campo della oncologia ginecologica ci è parso di particolare interesse lo studio dei tassi plasmatici di due sostanze: la *leucinaminopeptidasi* (L.A.P.) e la *fosfatasi alcalina termostabile* (H.S.A.P.), sulla scorta delle esperienze cliniche e sperimentali di vari Autori.

Per quanto riguarda il L.A.P. è stata segnalata, da numerose ricerche<sup>(1, 2, 3, 4, 5, 6)</sup>, una elevata attività di questo enzima nei tessuti tumorali e nei liquidi di colture cellulari He-La. Il significato biologico di questi reperti non è stato per altro ancora chiarito. Alcuni Autori ipotizzano trattarsi di un isoenzima ad alto peso molecolare derivante da frammenti di membrana citoplasmatica lisata piuttosto che di una effettiva iperproduzione di L.A.P. da parte di cellule tumorali<sup>(4, 5, 6)</sup>. Di contro altri Autori<sup>(7, 8, 9)</sup> hanno rilevato una elevata attività di L.A.P. nelle cellule stromali circostanti il tumore per cui la presenza dell'enzima sarebbe riferita alla risposta infiammatoria del tessuto sano dell'ospite più che alla neoplasia in sé; questo pare confermato dal fatto che le neoplasie ad alta invasività non presentano una dimostrabile elevazione stromale dell'enzima, mentre quelle a lenta evoluzione e raramente metastatizzanti sono particolarmente ricche di L.A.P.<sup>(10)</sup>.

Lo studio della H.S.A.P. ci è stato suggerito dalle ricerche di vari Autori che segnalano la presenza di questa frazione placentare termostabile della fosfatasi alcalina (A. P.) nel siero di pazienti affetti da cancro ed in una percentuale partico-

larmente elevata nei casi di neoplasie ginecologiche (11, 12, 13, 14, 15, 16).

La spiegazione della produzione di questa proteina di origine placentare da parte di cellule tumorali viene attribuita dagli stessi Autori alla derepressione del genoma nelle cellule neoplastiche. La cellula neoplastica riattiverebbe cioè quella parte del genoma che è normalmente espresso nelle cellule trofoblastiche e che è represso nelle cellule di origine embrioblastica (14).

Si potrebbe, in questo senso, supporre di poter trovare alti tassi di H.S.A.P. nei tumori maggiormente anaplastici, con più alto grado, cioè, di regressione biologica.

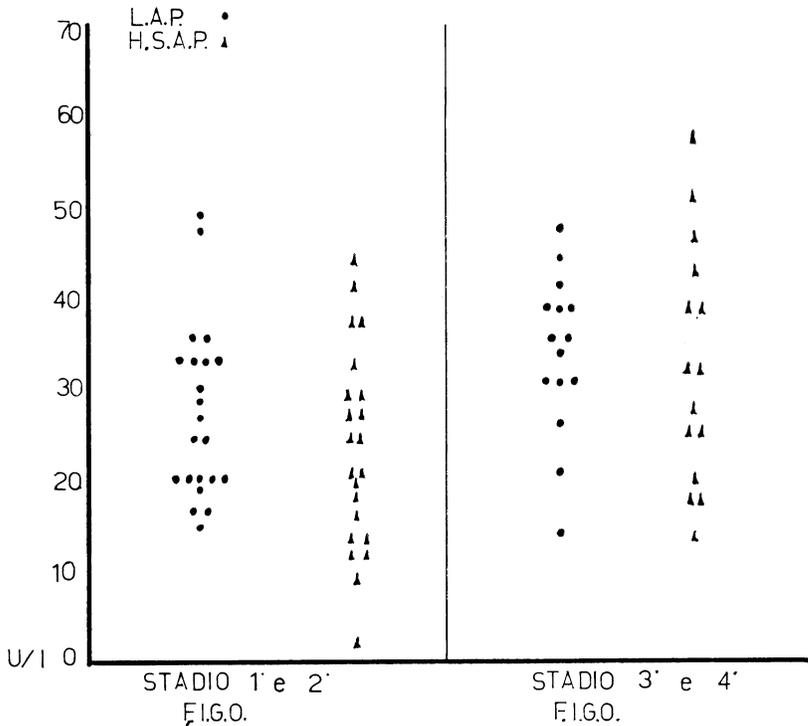
In questo studio abbiamo cercato di valutare se esistano significative variazioni dei tassi plasmatici di L.A.P. e H.S.A.P. in pazienti affette da neoplasie gineco-

logiche rispetto a pazienti con patologia ginecologica benigna e se dette variazioni possano essere correlate alla sede di insorgenza primitiva del tumore, al grado di anaplasia e all'estensione del processo morboso in modo tale da consentirne l'applicazione clinica, come « marker » biologici, nel monitoraggio delle neoplasie ginecologiche.

#### MATERIALE E METODI

Nella seguente ricerca sono stati studiati i livelli serici di L.A.P. e H.S.A.P. in 60 pazienti affette da patologia neoplastica ginecologica ed in 24 pazienti (considerate come controllo) affette da varia patologia ginecologica non neoplastica. I casi di neoplasia erano così suddivisi: K. Cervicis, 40 casi; K. Corporis, quattro casi; K. Ovarii, cinque casi; K. Vulvae, cinque casi; K. Mammæ, tre casi; malattia

TABELLA 1.



trofoblastica, tre casi: (mola vescicolare, un caso; corionepitelioma, due casi).

I dosaggi per il L.A.P. sono stati effettuati per mezzo di kits-test della « Carlo Erba », la cui metodica si basa sulla idrolisi della L-leucin-4-nitranilide con liberazione di p-nitranilina colorata in giallo in ambiente alcalino; la quantità di p-nitranilina formata è proporzionale all'attività enzimatica.

I dosaggi di H.S.A.P. sono stati effettuati per mezzo di kits-test della Boehringer Mannheim G.M.B.H. secondo la metodica seguita da vari Autori (17, 18, 19).

Per ogni campione di siero e per ogni enzima sono state effettuate due determinazioni.

## RISULTATI

I risultati ottenuti sono stati raccolti nelle tabelle 1 - 2 - 3.

La tabella 1 illustra il raffronto tra l'attività serica di H.S.A.P. e L.A.P. rilevata in pazienti con patologia non neoplastica

e pazienti con neoplasia maligna ulteriormente suddivisi a seconda del grado di anaplasia del tessuto tumorale.

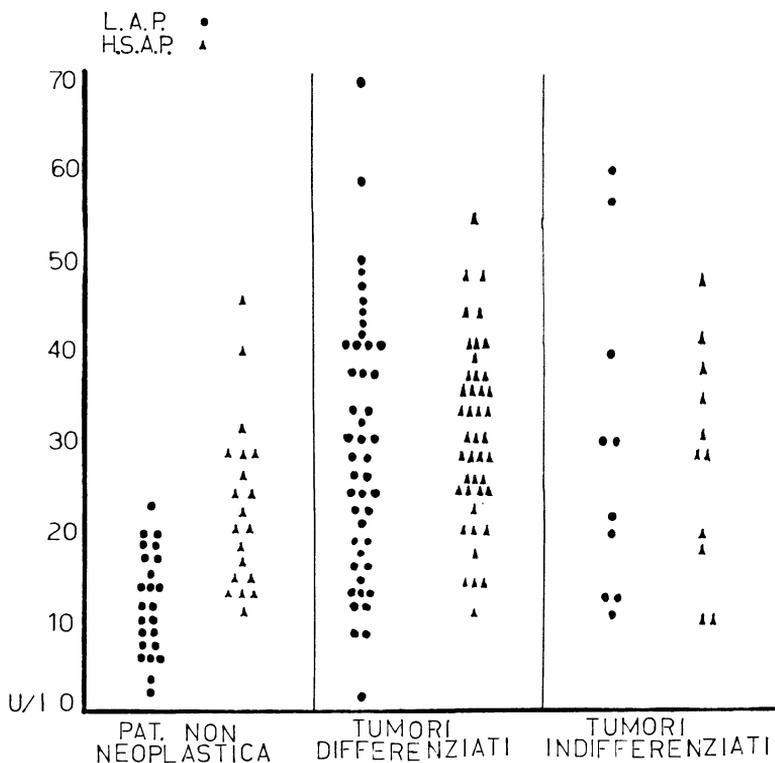
Per il L.A.P. si sono trovati valori elevati in 20 casi su 54 (37%) di patologia neoplastica contro due casi su 24 (8%) per la patologia non neoplastica (valori normali per il metodo: 11-35 U/l).

Non vi è un significativo incremento dei tassi dell'enzima in rapporto al grado di anaplasia del tessuto tumorale.

Per quanto riguarda la H.S.A.P. questa risulta significativamente elevata ( $P < 0,01$ ) nelle determinazioni eseguite su siero prelevato da pazienti con neoplasia maligna rispetto ai controlli non neoplastici. Non si evidenzia però alcuna variazione in rapporto al grado di anaplasia.

La tabella 2 prende in considerazione

TABELLA 2.



38 casi in cui fu possibile eseguire una completa stadiazione clinico-radio-chirurgica della neoplasia onde valutarne l'estensione. Non furono considerati i casi con metastasi ossee ed epatiche. Non si rilevano significative correlazioni tra la attività sierica di L.A.P. e di H.S.A.P. e l'estensione della neoplasia.

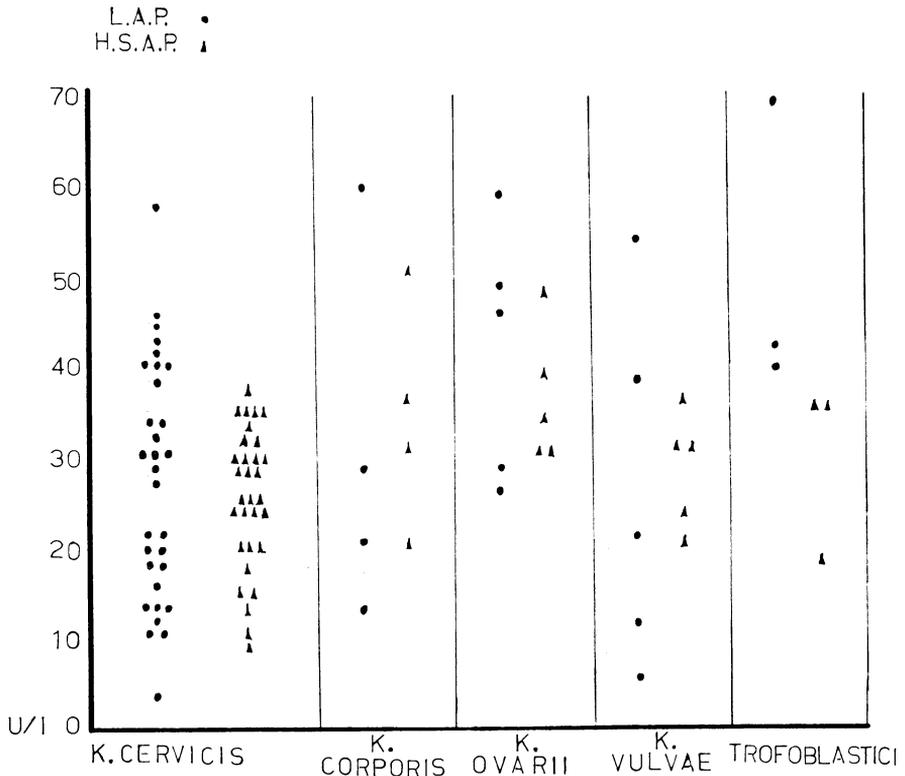
Nella tabella 3 la casistica è stata suddivisa a seconda della sede di insorgenza primitiva del tumore. Si rileva che solo nei cinque casi di tumore ovarico i tassi di attività enzimatica di L.A.P. e H.S.A.P. risultano costantemente elevati; il dato però non è avvallato da una significatività statistica dato il basso numero di determinazioni.

### CONCLUSIONI

Nel proporre lo studio di un possibile monitoraggio enzimatico delle neoplasie ginecologiche ci siamo rifatti ad alcune considerazioni di ordine metodologico. Innanzi tutto la ricerca di una determinata sostanza nel plasma per uno « screening » di patologia neoplastica deve permettere di distinguere tra la popolazione sana un gruppo di persone, se non sicuramente affette da cancro, per lo meno considerabile ad alto rischio.

In secondo luogo dovrebbe essere indicativa per monitorare l'evoluzione della malattia in rapporto alla terapia eseguita, per il depistage precoce delle recidive e delle metastasi.

TABELLA 3.



Perché la ricerca di questa sostanza possa essere utile clinicamente bisogna che ci siano delle significative differenze qualitative e/o quantitative in pazienti con patologia maligna rispetto a quelli con patologia benigna o ai soggetti sani. Il metodo di determinazione deve avere inoltre un'alta specificità (bassa percentuale di falsi positivi) ed alta sensibilità (bassa percentuale di falsi negativi).

Sulla scorta di queste considerazioni i dati da noi ottenuti non depongono per un reale significato del L.A.P. e H.S.A.P. nel monitoraggio delle neoplasie ginecologiche.

Per quanto riguarda il L.A.P. ulteriori contributi sulla relazione tra questo enzima e neoplasie maligne potranno essere ottenuti, a nostro avviso, solo attraverso lo studio dei suoi isoenzimi separati mediante elettroforesi. Philipps e Manildi<sup>(20)</sup> infatti hanno messo in evidenza la presenza di due frazioni dell'enzima (x e y) ed in particolare hanno riscontrato l'aumento molto significativo ( $P < 0,001$ ) della frazione y (che migra con le beta globuline) nei casi di neoplasia maligna e riportano variazioni fedeli di questa in rapporto con l'evoluzione della malattia.

Per l'H.S.A.P. i nostri dati confermano quanto già rilevato da altri Autori<sup>(11, 12, 13, 14, 15, 16)</sup> per quanto riguarda la presenza di questo isoenzima in pazienti con neoplasia maligna, pur non consentendoci di proporre la ricerca come « marker » della neoplasia.

Abbiamo rilevato infatti la presenza di H.S.A.P. anche in pazienti con patologia non neoplastica; questo dato, benché riportato anche da altri Autori<sup>(12, 21)</sup>, non concorda con l'ipotesi biologica da noi seguita e ci fa supporre che siano necessari ulteriori studi condotti soprattutto con metodi immunologici e non solo chimico-fisici.

La maggiore specificità di questi metodi permetterà, a nostro avviso, di valutare più esattamente le correlazioni esistenti tra H.S.A.P. e tessuto neoplastico al fine di renderne attuabile l'applicazione clinica.

#### RIASSUNTO

La Leucinaminopeptidasi (L.A.P.) e la Fosfatasi alcalina termostabile (H.S.A.P.) sono spesso elevate nel siero di pazienti affette da varie forme eteroplastiche.

È qui riportata la valutazione di questi enzimi nel siero di 60 pazienti con neoplasie maligne ginecologiche e 20 pazienti con patologia benigna; è stata anche ricercata l'eventuale correlazione esistente tra stadio clinico, terapia effettuata, sede di insorgenza, grado di anaplasia del tumore e H.S.A.P. e L.A.P.

L'incidenza della variazione della H.S.A.P. riscontrata è stata significativa ( $p < 0,01$ ) nelle neoplasie maligne rispetto alla patologia non neoplastica.

Per quanto riguarda il L.A.P. i risultati ottenuti non depongono per un reale significato di questa determinazione nel monitoraggio enzimatico delle neoplasie ginecologiche.

Si ritiene che ulteriori contributi sulle correlazioni tra questi enzimi e neoplasie ginecologiche si potranno ottenere attraverso studi immunologici ed elettroforetici degli isoenzimi.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) Sylven B., Bois J.: *Cancer Res.*, 20, 831, 1960.
- 2) Koundstaal J., Makkink B., Siebeh H., Overdiep S.N.: *Europ. J. Cancer*, 11, 105, 1975.
- 3) Takao O., Conrad H., Jong C., Robinson J.C.: *Am. J. Obst. Gyn.*, 122, 698, 1975.
- 4) Singer R.M., White L.J., Perry J.E., Doellgast G.J.: *Cancer Res.*, 38, 3048, 1975.
- 5) Shinkai K., Ohedo H.A.: *Cancer Res.*, 32, 2307-2313, 1972.
- 6) Doellgast G.J., Fishmann W.H.: *Isoenzymes: molecular structure*, vol. I, pp. 293-314, Marked ed New York, Accademic Press, 1975.
- 7) Hess E.L.: *Cancer Res.*, 20, 940, 1960.
- 8) Glenne G.G., Burstone M.S.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 23, 857, 1959.

- 9) Fischer F., Gedik J., Meyer D.B.: *Die Naturwissenschaften*, 46, 433, 1959.
- 10) Bustone M. S.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 16, 1149-1161, 1959.
- 11) Fishman W. H., Inglis N. R., Stolbach L. L.: *Cancer Res.*, 28, 150-154, 1968.
- 12) Cadeau B. J., Blachtein M. E., Marking A.: *Cancer Res.*, 34, 729-732, 1974.
- 13) Fishman W. H., Inglis N. R., Green S., Austiss C. L., Gosh M. K.: *Nature*, 219, 697-699, 1968.
- 14) Fishman W. H.: *Am. J. Med.*, 58, 617-650, 1974.
- 15) Stolbach L. L., Krant M. J., Fishman W. H.: *N. Engl. J. Med.*, 281, 757-762, 1962.
- 16) Nathanson L., Fishman W. H.: *Cancer*, 27, 1388-1397, 1971.
- 17) Bessey O. A.: *J. Biol. Chem.*, 165, 321, 1946.
- 18) Walter S. J.: *Arztl. Lab.*, 10, 220, 1964.
- 19) Richterich R.: *Schweiz. Med. Wschr.*, 92, 781, 1962.
- 20) Phillips R. W., Manildi E. R.: *Cancer*, 34, 350-356, 1974.
- 21) Usategni Gomez M., Yeager F. M., De Castro A. F.: *Cancer Res.*, 33, 1574, 1973.