

Lactato deshidrogenasa total y sus isoenzimas LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄, LDH₅, en el diagnóstico diferencial del síndrome ascítico

Drs. José Enrique López, Myriam Marcano Torres, José Enrique López Salazar, Yolanda López Salazar, Humberto Fasanella, Lesbia Michelangelli

RESUMEN

Fueron estudiados los valores de lactato deshidrogenasa total y sus isoenzimas LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄ y LDH₅ en el suero sanguíneo de 50 personas normales (25 hombres y 25 mujeres) y en el suero sanguíneo y líquido ascítico de 107 pacientes, 74 hombres y 33 mujeres, y cuyas edades oscilaron entre 16 y 78 años, con los diagnósticos de cirrosis hepática (40 casos), insuficiencia cardíaca congestiva (30 casos), neoplasias malignas (34 casos), tuberculosis peritoneal (2 casos) y trombosis de las venas suprahepáticas (1 caso). En todos los enfermos con ascitis de origen benigno y en los que tenían enfermedades tumorales sin metástasis peritoneales, se encontró que la actividad de la LDH total en el suero sanguíneo fue siempre superior a la del derrame ascítico y por ello la relación LDH total ascitis/LDH total suero sanguíneo en todos los casos fue inferior a la unidad; mientras que en las ascitis secundarias a la siembra tumoral del peritoneo hubo una actividad LDH total mayor que la del suero sanguíneo y por esta razón, la relación entre estas 2 actividades, en todos los casos, tuvo un valor superior a la unidad, obteniéndose valores promedios de $2,73 \pm 1,36$, lo cual resultó característico de los derrames de origen maligno.

Desde el punto de vista electroforético observamos que el patrón de isoenzimas LDH en los enfermos con cirrosis hepática y con tumores malignos no metastásicos al peritoneo fue isomórfico en ambos compartimientos; en los enfermos con insuficiencia cardíaca encontramos un patrón hepático (ascenso ligero de LDH₃) en el líquido ascítico y en los casos de tumores metastásicos en peritoneo, hemos apreciado un patrón caracterizado por un importante descenso de la actividad de LDH₁ y LDH₂

en contraste con una elevadísima actividad de LDH₄ y particularmente LDH₅, que resultó la isoenzima predominante. Este patrón fue muy característico de la ascitis de origen tumoral y por ello lo hemos designado patrón maligno.

Las diferencias entre los diferentes grupos fueron estadísticamente significativas y tuvieron implicaciones de orden diagnóstico y pronóstico, particularmente en el grupo de enfermos con ascitis secundarias a la invasión tumoral del peritoneo.

SUMMARY

Lactic dehydrogenase activity and LDH isoenzyme electrophoretic pattern of blood serum and ascitic fluid in 107 patients (74 males and 33 females) with cirrhosis of the liver, congestive heart failure and malignant neoplasm were determined simultaneously.

In all instances of serous effusions free of malignant cells, both from patients suffering nonneoplastic diseases and from patients with neoplastic diseases without involvement of the peritoneal serosa by the tumors cells, ascitis LDH was less than the serum LDH activity and LDH isoenzyme distribution showed an isomorphic or hepatic pattern.

In peritoneal fluid containing malignant cells the ascitis LDH activity was greater than the corresponding serum LDH isoenzymes was highly modified with an important increase of isoenzymes containing M monomer (LDH₄ and LDH₅) together with a significant decrease of Isoenzyme containing H monomer (LDH₄LDH₅) together with a significant decrease of Isoenzyme containing H monomer (primarily LDH₁ and LDH₂). This alterations indicate that cancer cells differ from normal cells in that their respiration is irreversible unpaired and the consequent lack of energy from the sources is compensated for an increase in anaerobic glycolysis.

INTRODUCCIÓN

El peritoneo es una membrana serosa constituida por tejido fibroelástico y una capa superficial de células endoteliales aplanadas que recubre la cavidad peritoneal y los órganos contenidos en ésta, parcial o totalmente y cuyas funciones primordiales son la fijación y sujeción de las vísceras entre sí o a la pared abdominal y la lubricación de sus superficies mediante la secreción de una pequeña cantidad de fluido, que previene la fricción original por el roce de las mismas durante los movimientos respiratorios y la actividad contráctil.

El espacio circundado por el peritoneo recibe el nombre de cavidad peritoneal la cual, en condiciones normales es virtual, con un escaso contenido líquido que mantiene la humedad de la serosa. En numerosas entidades patológicas, esta cavidad se hace real y en su interior se acumula un trasudado o exudado que ha sido denominada "ascitis".

Este término deriva del griego "askos" que significa "bolsa" y fue introducido por Trevisa en 1398. Las evidencias históricas señalan que el síndrome era conocido desde la más remota antigüedad y así por ejemplo, en uno de los aforismos de Hipócrates se establece: "Cuando el hígado está lleno de líquido y éste fluye a la cavidad peritoneal de manera que el ombligo se llena de agua, ocurre la muerte". Erasístratos de Alejandría (250 A.C.) consideraba que el agua no podía acumularse en la piel sin el estrechamiento de los vasos del hígado". Galeno escribía "el agua en la piel aumenta por demasiados humores". Aretaeus de Cappadocia relacionó la ocurrencia de anasarca con dificultad respiratoria, tos y pérdida de apetito. Celso (20 A.C.) recomendaba la paracentesis para "liberar al paciente del líquido ofensivo" y Pablo de Egina (625-690 D.C.) trataba la ascitis mediante un drenaje con un tubo de cobre en la cavidad abdominal y llamó la atención acerca de la inconveniencia de la evacuación súbita del líquido peritoneal (1).

Pacientes con cirrosis hepática descompensada han sido pintados por diferentes artistas, destacándose Hierónimus van Aeken (conocido como el Bosco por los países de habla castellana), se trata de un tríptico que representa el Juicio Final y que se conserva en la Academia de Bellas Artes de Viena. En él se ve un hombre que hace referencia al alcoholismo crónico y sus efectos: facies edematosa, tinte gris sucio cianótico, piel lampiña y feminoide, atrofia muscular, ginecomastia y ascitis. En el

Armamentarium Chirurgicum (1665) de S. Scultetus, existe un grabado que representa el tratamiento de un paciente con hidropesía mediante paracentesis abdominal para extraer líquido.

Nosotros (2) en un estudio de 100 pacientes con ascitis, realizado en el Hospital Universitario de Caracas, encontramos que 40% de los casos fueron debidos a cirrosis hepática con franco predominio del tipo portal, 31% a neoplasias malignas, 16% a insuficiencia cardíaca congestiva, 9% a enfermedades renales, 2% a tuberculosis peritoneal y 2% a enfermedades varias.

Numerosas investigaciones han sido efectuadas con la finalidad de determinar los factores que entran en juego para que se produzca la acumulación de fluido dentro de la cavidad peritoneal y ha podido establecerse de manera precisa la participación de por lo menos 3 mecanismos fisiopatológicos (3):

1. Elevación de la presión hidrostática en los sinusoides hepáticos (cirrosis hepática, obstrucción de las venas suprahepáticas, insuficiencia cardíaca congestiva y pericarditis constrictiva).
2. Disminución de la presión coloido-osmótica del plasma, como acontece en las hipoalbuminemias severas de cualquier origen.
3. Incremento de la permeabilidad de los capilares peritoneales, como se observa en las enfermedades neoplásicas y en las afecciones inflamatorias del peritoneo.

En resumen podríamos señalar que el líquido ascítico se acumula cuando la linfa hepática e intestinal es formada en cantidades que exceden la capacidad del conducto torácico para drenarla desde el abdomen. En todas las formas de hipertensión portal, la circulación linfática a través de este conducto, está aumentada desde 3 hasta 60 veces su valor normal. En relación con la enfermedad maligna, se producen mecanismos complejos que inducen a la acumulación de líquido, entre las cuales pueden señalarse: 1. Perfusión desde el lecho capilar anormal del tumor primario. 2. Existencia de una vasta superficie exudativa de células proliferativas, como consecuencia de la extensión del proceso neoplásico en el abdomen. 3. Exceso de producción a partir del peritoneo comprometido. 4. Presión oncótica ejercida por el exudado.

Considerando el extenso grupo de afecciones patológicas que durante su curso evolutivo pueden manifestarse con derrame en la cavidad peritoneal, el estudio de los caracteres físicos y químicos del líquido ascítico constituye un elemento de gran valor en el análisis etiológico diferencial y por esta razón numerosos investigadores han tratado de establecer con base en sus resultados, patrones característicos que faciliten su diferenciación cuando el médico se enfrenta a un síndrome de esta naturaleza y, particularmente, en aquellos casos en los cuales el derrame representa el primer signo de enfermedad. Sin embargo, este objetivo no ha podido ser alcanzado en todas las ocasiones, porque, muchos síntomas pueden ser comunes tanto para afecciones benignas como malignas, la biopsia hepática por aspiración puede mostrar resultados no concluyentes (4,5), los estudios citológicos pueden tener un alto porcentaje de falsos positivos o negativos (6-8) y la clasificación del derrame de acuerdo con su contenido en proteínas en trasudado para lesiones benignas y exudado para lesiones malignas, no es absolutamente confiable, puesto que sus resultados se superponen en numerosas circunstancias (9,11), lo cual originará problemas en su interpretación y eventualmente disminuirá su efectividad como elemento diagnóstico. Inclusive, el proteinograma y el glucoproteinograma electroforéticos no han demostrado resultados significativos (12-15).

Las consideraciones antes señaladas, han determinado que la ascitis haya despertado el interés de los investigadores y varios elementos bioquímicos diferentes hayan sido analizados en la últimas décadas. Así, Taipale y Hokkanen (16) y López (17,18) han determinado el seromucoide en este fluido cavitario. Wroblewski (19), Santoni (20) Fleisher y col. (21), López (22-25) y Donowitz y col. (26), han estudiado la actividad de diversas enzimas en el líquido ascítico y han resaltado su importancia en el diagnóstico diferencial de las afecciones malignas y de las benignas. Otros autores (27,28) realizaron la determinación de los lípidos totales y demostraron su ascenso en las ascitis de origen maligno.

También se han determinado los valores normales de la actividad de la deshidrogenasa láctica y de la transaminasa glutámico oxaloacética en el líquido cefalorraquídeo con la finalidad de tener un patrón de comparación para el diagnóstico de las enfermedades del sistema nervioso central y periférico (29). Otros autores han determinado las enzimas séricas

en el estudio de las enfermedades hepato biliares (30-34), durante el embarazo normal y en algunas patologías gineco-obstétricas. Toro y Rovero (35) estudiaron la actividad de la deshidrogenasa málica en el suero sanguíneo de gestantes, constatando valores normales durante todo el embarazo, una disminución durante el trabajo de parto y un incremento a las 48 horas del puerperio; Genatios y Barrios (36) determinaron la actividad sérica de la isocítrico deshidrogenasa durante el embarazo, no encontraron alteración en ninguno de los períodos de la gestación, aunque observaron un discreto ascenso de la actividad enzimática durante el trabajo de parto y en las primeras horas del puerperio así como también en el cordón umbilical. Villalobos, Olivares y Sánchez (37) estudiaron la deshidrogenasa láctica en el suero sanguíneo de 52 embarazadas normales a término y encontraron que eran discretamente más elevadas que en el sujeto adulto normal (512 y 470 U/ml) respectivamente.

Booth y col. (38) y Hass (39) han resaltado la importancia clínica de la detección de proteínas asociadas al cáncer, particularmente el antígeno carcinoembriogénico en el líquido ascítico para diferenciar los de origen maligno de aquellos determinados por causas congestivas e inflamatorias.

Recientemente, algunos parámetros bioquímicos han sido considerados importantes en el diagnóstico diferencial del síndrome ascítico, tales como el gradiente albúmina suero/ albúmina líquido ascítico; la fibronectina, una glucoproteína liberada de las células malignas; el colesterol y el ácido siálico ascítico (40-46); sin embargo, otros autores han señalado resultados contradictorios al utilizar las mismas técnicas (47-48).

Basado en estas observaciones y tomando en cuenta la experiencia que previamente hemos adquirido en el manejo de laboratorio con la lactato deshidrogenasa, hemos emprendido el presente trabajo con la finalidad de determinar el comportamiento de la enzima y sus diferentes fracciones en el suero sanguíneo y líquido ascítico de pacientes con cirrosis hepática, insuficiencia cardíaca congestiva y carcinomatosis peritoneal, mediante la aplicación de métodos bioquímicos y electroforéticos, con el objeto de verificar si existen modificaciones en relación con los patrones normales, si estos tienen correlación con entidades nosológicas específicas; si existen diferencias entre exudados y trasudados, si las alteraciones de las enzimas permiten la distinción entre afecciones

benignas o malignas y si pueden ser empleadas para establecer pronóstico en las mismas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fueron estudiadas 50 personas aparentemente sanas, entre estudiantes de medicina y donantes voluntarios de sangre, 25 hombres y 25 mujeres, con edades comprendidas entre 18 y 54 años y 107 pacientes portadores de síndrome ascítico, que ingresaron al Hospital Central de Valencia "Dr. Enrique Tejera", en un período de 4 años cuyas edades oscilaron entre 16 y 78 años. Setenta y cuatro enfermos fueron del sexo masculino y treinta y tres del femenino, en quienes se establecieron los diagnósticos que se describen a continuación:

1. Cirrosis hepática.

Incluye 40 casos de los cuales 37 correspondieron a la cirrosis portal posalcohólica de Laennec; 2 al tipo posnecrótico y 1 a hepatitis crónica. En todos los casos el diagnóstico definitivo fue establecido sobre la base de parámetros clínicos, de laboratorio e histopatológicos. En 31 de los enfermos, predominó el síndrome de hipertensión portal y en 9 había evidencias clínicas y de laboratorio de insuficiencia hepática severa.

2. Insuficiencia cardíaca congestiva.

Incluye 30 casos, de los cuales, 18 correspondieron a miocarditis crónica chagásica, 9 a cardiopatía isquémica crónica y 3 a corazón crónico. El diagnóstico fue establecido sobre la base de parámetros clínicos, electrocardiográficos, ecocardiográficos, radiológicos y serológicos (reacción de Machado-Guerreiro).

3. Neoplasias malignas.

En este grupo, están incluidos 34 casos de neoplasias malignas, de los cuales 31 correspondieron a tumores sólidos y 3 a hemopatías malignas. Entre los primeros, se estudiaron 14 casos de adenocarcinoma gástrico, 4 casos de carcinoma de ovario, 3 casos de carcinoma de páncreas, 3 casos de carcinoma de mama, 3 casos de carcinoma pulmonar, 2 casos de cáncer del colon, 1 caso de carcinoma rectal y 1 caso de hepatoma maligno.

Los 3 restantes fueron: enfermedad de Hodgkin (2 casos) y leucemia linfocítica crónica (1 caso).

La sospecha diagnóstica de enfermedad tumoral se estableció desde el punto de vista clínico, de laboratorio y radiológico y, en todos los pacientes, ésta se confirmó por estudio histopatológico. En 22 pacientes se comprobó la existencia de metástasis diseminadas en cavidad peritoneal y en los otros 12 casos éstas no fueron detectadas aun con el empleo de diversas técnicas diagnósticas.

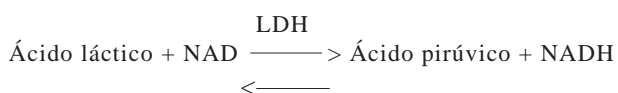
4. Misceláneas.

Incluye 2 casos de tuberculosis peritoneal con confirmación histopatológica y 1 caso de trombosis de las venas suprahepáticas.

En todos los grupos (personas sanas y enfermas), se procedió bajo cuidadosa técnica para evitar hemólisis, a tomar una muestra de 10 ml de sangre después de 12 horas de ayuno, la misma se mantuvo en reposo a temperatura ambiente durante 60 minutos; luego se procedió a centrifugarla a 1 500 revoluciones por minuto con el objeto de obtener el suero sanguíneo. Inmediatamente se realizó la determinación de la actividad de la lactato deshidrogenasa total (LDH) mediante el método de Berger y Broida del laboratorio Sigma Technical Company (49) y a la migración electroforética del suero sanguíneo, empleando la técnica "Super Z and Zip Zone" del Laboratorio Helena, para obtener las isoenzimas (50).

Fundamento de la reacción

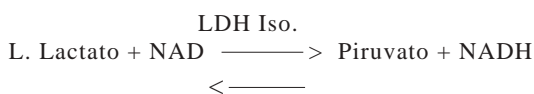
1. La LDH es una enzima que cataliza la reacción reversible:



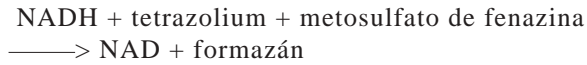
NAD Dinucleótido de adenina y nicotinamida oxidado
NADH Dinucleótido de adenina y nicotinamida reducido

El equilibrio de la reacción favorece la reducción de piruvato a lactato y la rata de conversión es proporcional a la cantidad de LDH presente en la muestra. El resultado se expresa en U/ml de suero sanguíneo o de líquido ascítico.

2. Las isoenzimas LDH catalizan la reacción reversible:



El NADH por reducción con una sal tetrazolium originará un compuesto de formazán coloreado que permite la visualización de las isoenzimas.



El resultado de la actividad LDH total se expresa en porcentaje.

Con los resultados encontrados en el grupo de sujetos aparentemente sanos (grupo control), se elaboró un patrón normal que sirviera como elemento de comparación en los casos portadores de las patologías antes señaladas.

En las personas normales, el patrón electroforético de isoenzimas LDH en el suero sanguíneo se caracteriza por predominio de la actividad LDH₂ sobre la LDH₁ con valores decrecientes LDH₄ y LDH₅. Figura 1 (patrón normal). En la Figura 1 vemos el patrón electroforético de isoenzimas LDH en el suero sanguíneo de personas normales.

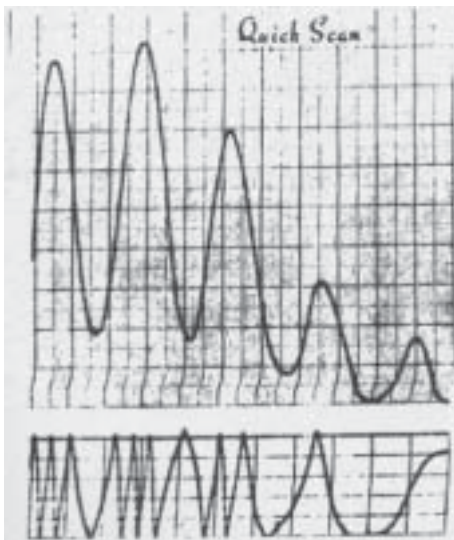


Figura 1. Patrón electroforético de isoenzimas LDH en el suero sanguíneo de personas normales. Puede apreciarse la distribución normal de las cinco isoenzimas, en la cual predomina la actividad de LDH₂ sobre la LDH₁ con valores decrecientes LDH₃, LDH₄ y LDH₅ (patrón normal).

Cuando el contenido de LDH total en el suero sanguíneo se encuentra elevado en algunas situaciones patológicas, pueden observarse tres patrones electroforéticos:

1. **Patrón isomórfico:** semeja al patrón normal y aunque cursa con actividad LDH aumentada, carece de especificidad (Figura 2). En la Figura

2, podemos observar la migración electroforética de LDH en el suero sanguíneo de pacientes con patrón isomórfico.

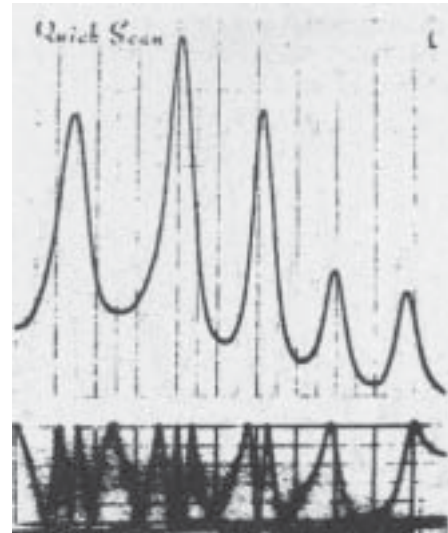


Figura 2. Patrón electroforético de isoenzimas LDH en el suero sanguíneo de pacientes con distribución parecida a las personas normales (patrón isomórfico).

2. **Patrón cardíaco o hemolítico:** se caracteriza por el ascenso de la fracción LDH₁ que es mayor que la LDH₂. Suele verse en el infarto del miocardio y en los cuadros de hemólisis (Figura 3). En la Figura 3, podremos apreciar el patrón cardíaco o hemolítico de las isoenzimas LDH en el suero sanguíneo.

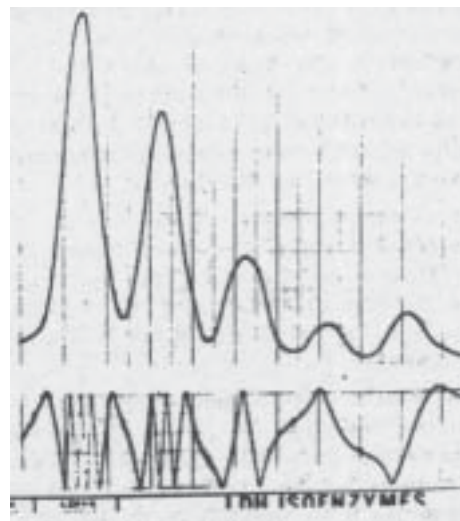


Figura 3. Patrón cardíaco o hemolítico de las isoenzimas LDH en el suero sanguíneo. Se caracteriza por el ascenso de LDH₁ que predomina sobre la actividad de la LDH₂.

3. **Patrón hepático o del músculo esquelético:** presenta elevación de la actividad LDH₅. Suele verse en los casos de afecciones hepáticas agudas y en las enfermedades musculares (Figura 4). En la Figura 4, puede apreciarse el patrón hepático de isoenzimas LDH.

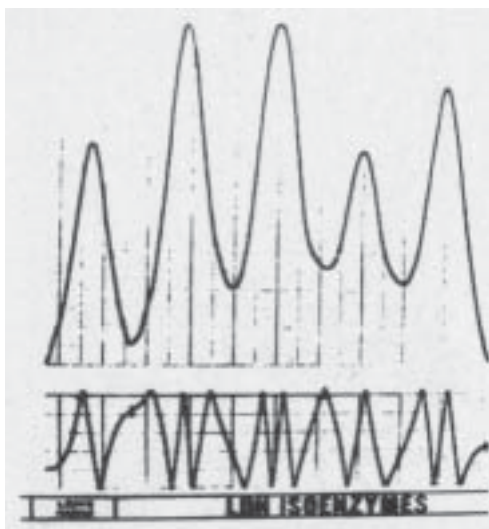


Figura 4. Patrón hepático de isoenzimas LDH caracterizado por ascenso de la actividad LDH₅.

Simultáneamente, en el grupo de pacientes en estudio, se extrajo una muestra de 10 ml de líquido ascítico mediante paracentesis estéril y luego centrifugada a temperatura ambiente. En el sobrenadante libre de elementos celulares, se determinó la actividad de la lactato deshidrogenasa total por los métodos bioquímicos antes mencionados y las isoenzimas por electroforesis.

Los resultados obtenidos en el líquido ascítico fueron comparados con los del suero sanguíneo del mismo paciente, en razón de que, por no existir derrame peritoneal importante en condiciones fisiológicas, no se puede establecer patrón normal para el mismo.

Posteriormente, estos hallazgos fueron sometidos a un estudio estadístico de tipo descriptivo tanto de tendencia central como de dispersión y técnicas de estadística inferencial paramétrica y no paramétrica, particularmente la "t" de Student, el chi cuadrado y el análisis de varianza, con la finalidad de obtener la significancia de los datos obtenidos.

La muestra fue de tipo intencional y el diseño de tipo prospectivo, descriptivo, y de correlación. El intervalo de confianza = 95% con una p= 0,05.

RESULTADOS

En el Cuadro 1, pueden observarse los valores promedios de la LDH total y sus isoenzimas en el suero sanguíneo de 50 personas normales.

Cuadro 1

Valores de lactato deshidrogenasa total y sus isoenzimas en el suero sanguíneo de 50 personas normales (*)

	LDH TOTAL	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
PA	272,20	26,85	32,58	26,50	7,48	6,59
DE	± 109,15	± 3,48	± 3,98	± 3,81	± 2,25	± 2,87
EE	± 15,34	± 0,49	± 0,56	± 0,53	± 0,31	± 0,40

PA = Promedio aritmético

DE = Desviación estándar

EE = Error estándar

* Los valores de LDH total están expresados en U/ml de suero sanguíneo y las isoenzimas en porcentajes de la actividad total.

En el Cuadro 2, aparece la relación LDH₁/LDH₂ y LDH₁/LDH₅ en el suero sanguíneo de personas normales.

Cuadro 2

Relación LDH₁/LDH₂ y LDH₁/LDH₅ en el suero sanguíneo de 50 personas normales

	Relación LDH ₁ /LDH ₂	Relación LDH ₁ /LDH ₅
PA	0,83	5,09
DE	± 0,11	± 2,84
EE	± 0,01	± 0,40

PA Promedio aritmético

DE Desviación estándar

EE Error estándar

En el Cuadro 3, puede apreciarse la relación LDH total ascitis/LDH total suero sanguíneo en pacientes con síndrome ascítico.

Cuadro 3

Valores de la relación LDH total líquido ascítico/LDH total suero sanguíneo

Enfermedad	Nº casos	P A	D E
cirrosis hepática	40	0,39	± 0,14
insuficiencia cardíaca	30	0,50	± 0,21
neoplasias malignas con metástasis peritoneal	22	2,73*	± 1,36
neoplasias malignas sin metástasis peritoneal	12	0,42	± 0,27

P A = Promedio aritmético

D E = Desviación estándar

* p < 0,001

En el Cuadro 4, aparece el valor porcentual de LDH₁ en el líquido ascítico.

Cuadro 4

Valor porcentual de la LDH₁ en el líquido ascítico

Enfermedad	Nº casos	Porcentaje
cirrosis hepática	40	22,39
insuficiencia cardíaca	30	22,45
neoplasias malignas con metástasis peritoneal	22	7,77*
neoplasias malignas sin metástasis peritoneal	12	25,44

* p < 0,001

En el Cuadro 5, se registra el valor porcentual de LDH₅ en el líquido ascítico.

Cuadro 5

Valor porcentual de LDH₅ en el líquido ascítico

Enfermedad	Nº casos	Porcentaje
cirrosis hepática	40	8,07
insuficiencia cardíaca	30	11,80
neoplasias malignas con metástasis peritoneal	22	30,50*
neoplasias malignas sin metástasis peritoneal	12	8,98

*p< 0,001

En el Cuadro 6, se señala la relación LDH₁/LDH₂ en el líquido ascítico.

Cuadro 6

Relación LDH₁/ LDH₂ en el líquido ascítico

Enfermedad	Nº casos	Relación
cirrosis hepática	40	0,74
insuficiencia cardíaca	30	0,76
neoplasias malignas con metástasis peritoneal	22	0,47*
neoplasias malignas sin metástasis peritoneal	12	0,74

*p< 0,001

En el Cuadro 7 puede observarse la relación LDH₁/LDH₅ en el líquido ascítico.

Cuadro 7

Relación LDH₁/LDH₅ en el líquido ascítico

Enfermedad	Nº casos	Relación
cirrosis hepática	40	4,20
insuficiencia cardíaca	30	2,41
neoplasias malignas con metástasis peritoneales	22	0,41*
neoplasias malignas sin metástasis peritoneales	12	7,3

*p< 0,001

En la Figura 5, puede apreciarse la relación LDH total ascitis/LDH total suero sanguíneo en pacientes con ascitis. Obsérvese que la relación más alta (2,73) correspondió a los pacientes con tumores malignos metastásicos a la cavidad peritoneal.

En la Figura 6, puede evidenciarse al valor porcentual de la LDH₁ en el líquido ascítico de pacientes con ascitis. Nótese el valor más bajo de LDH₁ (7,77%) obtenido en los pacientes con cánceres metastásicos en la cavidad peritoneal.

LACTATO DE DESHIDROGENASA TOTAL

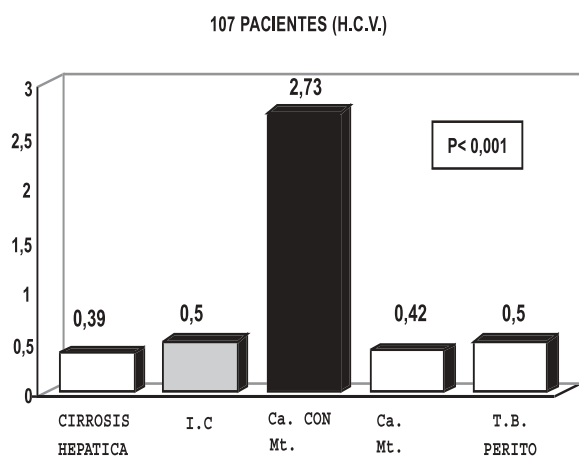


Figura 5. Relación LDH total ascitis/LDH total suero sanguíneo.

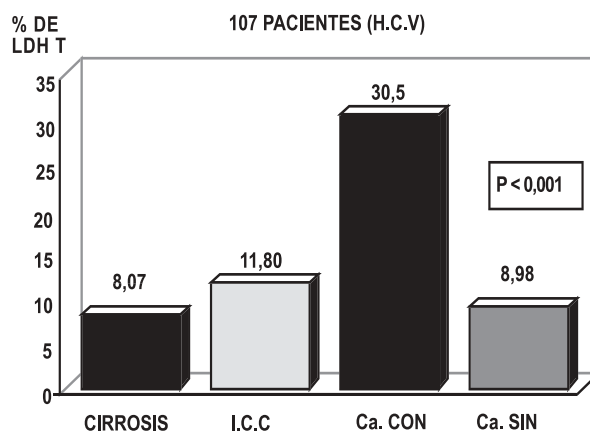


Figura 7. Valor porcentual de LDH₅ en el líquido ascítico.

En la Figura 8, puede evidenciarse la relación LDH₁/LDH₂ en el líquido ascítico de pacientes con ascitis. El valor más bajo (0,47) correspondió a pacientes con cánceres metastásicos en la cavidad peritoneal.

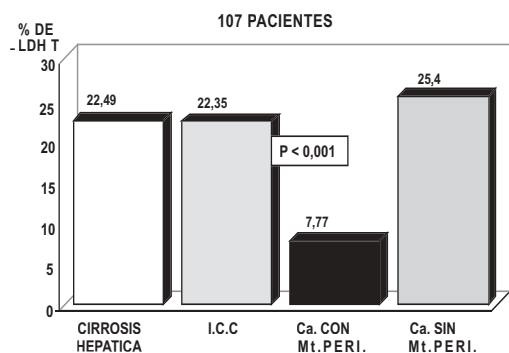


Figura 6. Valor porcentual de la LDH₁ en el líquido ascítico.

En la Figura 7, puede verse el valor porcentual de LDH₅ en el líquido ascítico de pacientes con ascitis. Obsérvese que el valor más elevado (30,5%) correspondió a pacientes con cánceres metastásicos en la cavidad peritoneal.

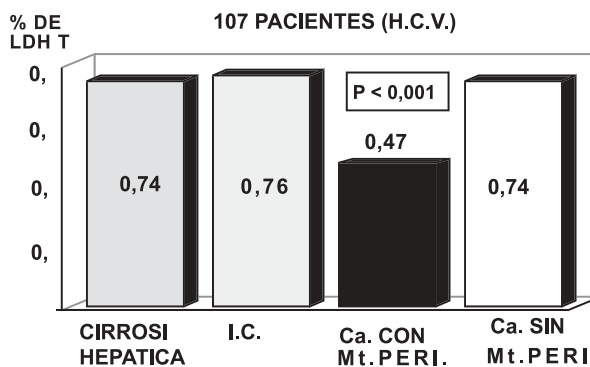


Figura 8. Relación LDH₁/LDH₂ en el líquido ascítico.

En la Figura 9, puede apreciarse la relación LDH₁/LDH₅ en el líquido ascítico de pacientes con ascitis. El valor más bajo (0,31) correspondió a pacientes con cánceres metastásicos en la cavidad peritoneal.

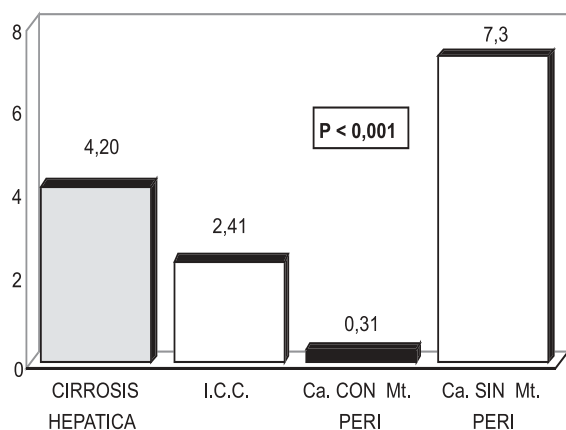


Figura 9. Relación LDH₁/LDH₅ en el líquido ascítico.

En la Figura 10, se señala el patrón electroforético de las isoenzimas de la LDH en el suero sanguíneo y líquido ascítico de un paciente con cirrosis hepática.

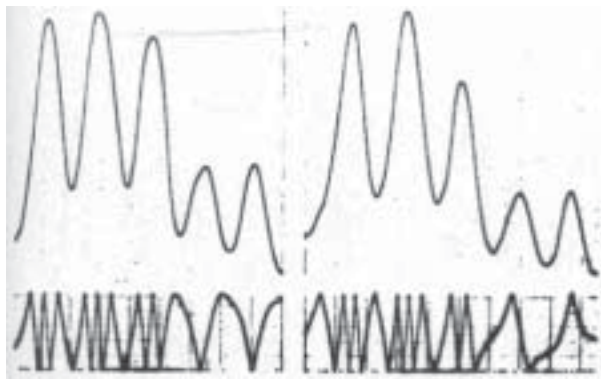


Figura 10. Patrón electroforético de isoenzimas LDH en el suero sanguíneo y líquido ascítico de una paciente con cirrosis hepática. La distribución de las cinco fracciones de la LDH en el líquido ascítico es similar a la del suero sanguíneo (patrón isomórfico).

En la Figura 11, se señala el patrón electroforético de las isoenzimas de la LDH en el suero sanguíneo y en el líquido ascítico de un paciente con insuficiencia cardíaca congestiva por corazón pulmonar crónico.

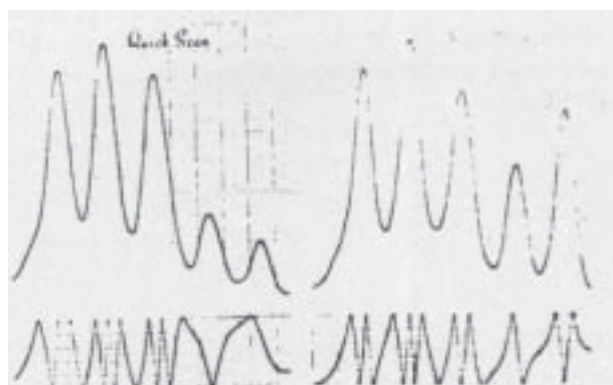


Figura 11. Patrón electroforético de isoenzimas LDH en el suero sanguíneo y líquido ascítico de un paciente con insuficiencia cardíaca congestiva debido a corazón pulmonar crónico. Puede observarse el ascenso de la actividad LDH₅ en el líquido ascítico (17,4%) mientras que esta actividad en sangre fue baja (3,3%). Nótese que la LDH₁ es normal.

En la Figura 12, puede observarse el patrón electroforético de las isoenzimas LDH en el suero sanguíneo y líquido ascítico de una paciente con carcinoma gástrico sin metástasis en el peritoneo.

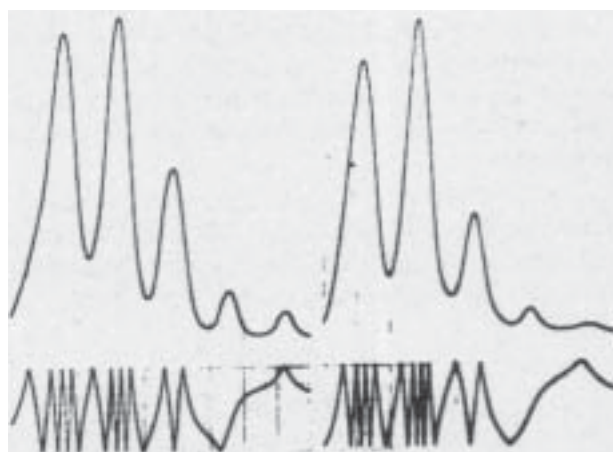


Figura 12. Patrón electroforético de isoenzimas LDH en suero sanguíneo y líquido ascítico de un paciente con carcinoma gástrico sin metástasis peritoneal. Obsérvese el patrón isomórfico en ambos compartimientos.

En la Figura 13, puede verse el patrón electroforético de las isoenzimas LDH en el suero sanguíneo y líquido ascítico de un paciente con carcinoma gástrico con metástasis en la cavidad peritoneal.

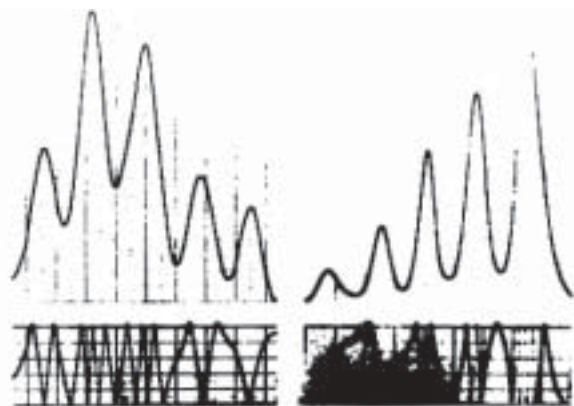


Figura 13. Patrón electroforético de isoenzimas LDH en suero sanguíneo y líquido ascítico de un paciente con carcinoma gástrico y metástasis en la cavidad peritoneal. En el suero sanguíneo el patrón es isomórfico, mientras que en el líquido ascítico se observa LDH₁ muy disminuida con un aumento muy significativo de LDH₅.

En la Figura 14, puede observarse el patrón electroforético de las isoenzimas de la LDH en el suero sanguíneo y líquido ascítico de una paciente con carcinoma de ovario metastásico a la cavidad peritoneal.

En la Figura 15, puede apreciarse el patrón electroforético de isoenzimas LDH en el líquido ascítico de un paciente con adenocarcinoma del recto con metástasis en la cavidad peritoneal.

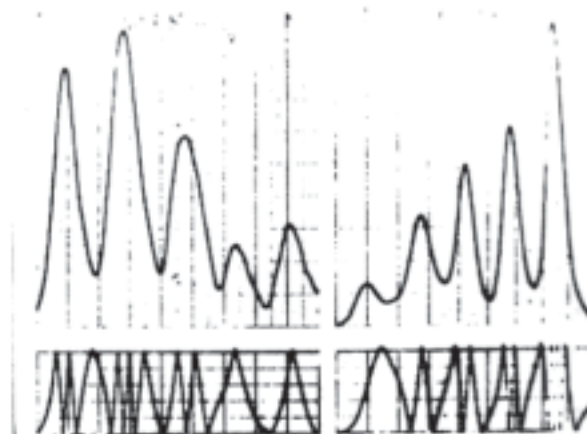


Figura 14. Patrón electroforético de isoenzimas LDH en el suero sanguíneo y líquido ascítico de una paciente con carcinoma de ovario metastásico al peritoneo. Puede apreciarse en el líquido ascítico el descenso de la actividad LDH₁ (3,6%) con importante ascenso de LDH₅ (32,8%).

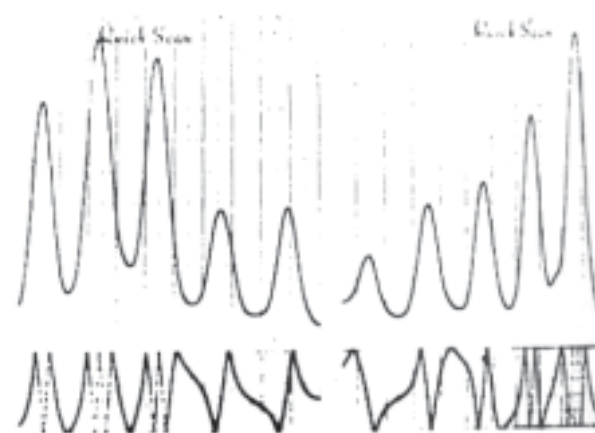


Figura 15. Patrón electroforético de isoenzimas LDH en el suero sanguíneo y líquido ascítico de un paciente con adenocarcinoma del recto. Puede apreciarse un importante descenso de LDH₁ e incremento de LDH₅.

DISCUSIÓN

Las enzimas son sustancias orgánicas de naturaleza proteica, producidas en los seres vivos, que actúan como catalizadores específicos de las reacciones químico-biológicas determinando el

sentido de las mismas y acelerándolas. Su acción se establece por simple presencia y no experimentan modificaciones durante la reacción en la cual provocan la transformación del sustrato.

Estructuralmente están constituidas por una

fracción proteica denominada apoenzima que se caracteriza por ser termolábil, actuar a concentraciones mínimas y no dializar. Esta acción catalizadora puede ejercerse de manera aislada o requerir de iones metálicos o de sustancias orgánicas termoestables y dializables denominadas coenzimas, cuya función primordial es la de actuar como mediadora entre las diversas enzimas, suministrando radicales fosfóricos o donando y aceptando hidrogeniones.

En resumen, a la apoenzima le compete la especificidad del sustrato y a la coenzima, la acción y la unión de ambas, constituye la holoenzima.

La velocidad de una reacción enzimática se expresa por lo general, por la cantidad de sustrato transformado o de sustancias producidas en la unidad de tiempo y depende de numerosos factores tales como: la especificidad o selectividad de acción, condiciones ideales de pH y temperatura, concentración de sustrato y de coenzima, presencia de elementos activadores e inhibidores y otros.

La presencia de enzimas en el suero sanguíneo se valora de acuerdo con la actividad de las mismas, la cual se define como la cantidad de sustrato transformado o de productos de la reacción formados mediante la catalización enzimática en un volumen determinado de plasma y bajo condiciones estrictas de pH, temperatura y tiempo de incubación. Esta actividad se expresa en una unidad internacional, la cual corresponde a la cantidad de enzima que cataliza la transformación de 1 micromol de sustrato, en 1 minuto a 37°C.

El avance de la investigación clínica ha permitido comprobar elevados valores de actividad enzimática en el suero de pacientes afectados por diversas entidades patológicas. En estas condiciones, las enzimas que normalmente se encuentran en el interior de las células, dispersas en su citoplasma o unidas a las organelas intracelulares (microsomas o mitocondrias) son liberadas al torrente circulatorio como consecuencia de la destrucción celular o del incremento en su producción.

El grado de elevación de los niveles séricos de una enzima dependerá, en resumen de los siguientes factores:

1. Concentración de la enzima en el interior de la célula.
2. Producción de la enzima por la célula lesionada.
3. Cantidad de tejido o de células destruidas.

4. Accesibilidad de los productos de destrucción celular al torrente circulatorio.

Estos niveles aumentados, persistirán por períodos variables después de la lesión celular, dependiendo del tipo de tejido y de la enzima en estudio y representan en muchas situaciones clínicas una información de gran utilidad.

La lactato deshidrogenasa (LDH) es una enzima del grupo de las óxidorreductasas que abunda en el músculo esquelético, hígado, corazón, riñón y, en menor cantidad, en páncreas y pulmón. Su actividad en los eritrocitos es 100 veces superior al suero sanguíneo, lo cual significa que las muestras de sangre para estudio de la enzima deben estar libres de hemólisis. Tiene un peso molecular de 130 000 y actúa a pH óptimo de 7,4 y temperatura de 39°C. y cataliza la oxidación reversible del lactato a piruvato y además, tiene gran importancia en la glucólisis anaeróbica, proceso mediante el cual el organismo obtiene energía a partir de la degradación de los carbohidratos.

Las investigaciones bioquímicas han permitido demostrar que las enzimas no son estructuralmente homogéneas, si no que por el contrario, su composición es heterogénea y de acuerdo con el órgano de donde provengan, algunas enzimas con funciones idénticas, poseen diferencias en determinadas propiedades físicas que permiten su separación mediante los modernos métodos de aislamiento y purificación.

Mediante estudios electroforéticos se ha comprobado que la LDH en la mayoría de los órganos de los mamíferos está constituida por varias fracciones separables, cuyas concentraciones difieren de un tejido a otro y se ha confirmado, que la LDH existe bajo cinco formas moleculares con funciones idénticas (51).

Markert y Moller (52) en 1959, propusieron el nombre de isoenzimas para estas fracciones no homogéneas de igual especificidad de sustrato, que catalizan la misma reacción.

Cada isoenzima LDH es un tetrámero compuesto de una combinación de 2 tipos de subunidades polipeptídicas diferentes denominadas "H" (heart) y "M" (muscle), sin actividad enzimática, determinadas genéticamente (53).

De la unión de estas subunidades polipeptídicas resultan 2 tetrámeros puros y 3 tetrámeros híbridos:

LDH₁=HHHH (proveniente del corazón).
 LDH₅=MMMM (proveniente del hígado).
 LDH₂=HHHM
 LDH₃=HHMM
 LDH₄=HMMM

Sólo las células diploides contienen el código necesario para la síntesis de los 2 monómeros (H y M) a partir de los cuales se forman las isoenzimas. Cuanto mayor sea el grado de división, mayor será la síntesis de sustancias del código de uno de los monómeros, con lo cual varía la relación entre las isoenzimas y así por ejemplo, aquellos tejidos con funciones "in vivo" predominantemente aeróbicas, sintetizarán monómeros "H" en mayor proporción y las anaeróbicas monómeros "M", resultando que en la poliploidización se adapta la síntesis de proteínas a las necesidades metabólicas. Por esta razón, la isoenzima LDH₁ (HHHH) se encuentra en los tejidos con alto índice de metabolismo oxidativo y la LDH₅ (MMMM) en los de metabolismo predominantemente anaeróbico (glucólisis anaeróbica).

Tomando en consideración los diferentes criterios utilizados en la nomenclatura de las isoenzimas LDH, Wieme (54) en la Conferencia sobre "Múltiples formas moleculares de enzimas", presentada en New York en 1961, propuso la numeración de las mismas en orden decreciente de acuerdo con su movilidad electroforética, de manera tal que la de movimiento más rápido se designará LDH₁ y la de desplazamiento más lento LDH₅. Las cinco fracciones se desplazan unidas a las proteínas y se ha demostrado que tienen distinta capacidad migratoria, lo cual ha permitido su perfecta caracterización y así se ha observado que LDH₁ y LDH₂, migran al ánodo o polo positivo y la LDH₃, LDH₄ y LDH₅ lo hacen hacia el cátodo o polo negativo.

En el suero sanguíneo, en condiciones normales, la actividad de LDH₂ es superior a la LDH₁, en la mayoría de los casos. Las fracciones LDH₃, LDH₄ y LDH₅ también se encuentran presentes y, en términos generales, existen en menor proporción que las otras 2 isoenzimas; el contenido de LDH₅ es el más bajo.

La determinación de la actividad de LDH ha sido extensamente utilizada en la clínica y la elevación de sus valores en el suero sanguíneo y líquido ascítico ha sido desmostrada en numerosas entidades patológicas (55-59). Las dificultades inicialmente confrontadas en la interpretación del ascenso de los niveles de LDH total, han sido obviados con la

aplicación de los métodos electroforéticos en el estudio de las isoenzimas, las cuales proporcionan una información más fidedigna acerca del tejido que dio origen al ascenso de la actividad de la enzima en el suero sanguíneo, tal como hemos demostrado en un trabajo anterior (60).

Las primeras observaciones acerca de la importancia de la determinación de la lactato deshidrogenasa en los líquidos corporales, fueron realizadas en 1957 por Wroblewski (61) y, posteriormente, éstas fueron confirmadas en subsiguientes trabajos del mismo autor y sus colaboradores (62-63).

Analizaremos los resultados obtenidos en las diversas entidades patológicas, objeto de este trabajo:

1. Cirrosis hepática

En treinta de los enfermos, la actividad enzimática en el suero sanguíneo se encontró dentro de los límites normales, en los diez restantes la actividad LDH total estuvo aumentada, particularmente cuando presentaron brotes de necrosis hepática con evidencias clínicas y de laboratorio de insuficiencia hepática severa. En cinco de estos últimos, los valores de la enzima en el suero sanguíneo ascendieron a niveles entre 815 y 1 200 U/ml, lo cual interpretamos como indicio de lesión celular activa. En los sujetos en quienes predominó la hipertensión portal, las cifras de LDH total fueron similares a las de los sujetos normales.

En todos nuestros pacientes, la actividad de la LDH total en el líquido ascítico fue significativamente menor que la obtenida simultáneamente en el suero sanguíneo, de manera tal que la relación entre la actividad LDH/total en ascitis/LDH total en suero sanguíneo, en todos los casos, fue inferior a la unidad.

Nuestros hallazgos concuerdan con lo publicado por otros autores (64-66) que señalaron que la actividad enzimática de la LDH en los derrames pleurales y peritoneales asociados a enfermedades benignas tales como cirrosis hepática, siempre fue más baja que la correspondiente a la sangre, lo cual les permitió identificar los líquidos no neoplásicos y López (23) ha publicado idénticos hallazgos, manteniéndose la relación LDH total ascitis/LDH total del suero menor que la unidad.

Ha sido demostrado que el intercambio de las fracciones globulínicas de un derrame con el correspondiente compartimiento plasmático, no se

realiza libremente debido a la dificultad que ellas tienen para atravesar las membranas serosas, a diferencia del contenido acuoso que entra y sale de la cavidad muy rápidamente. Con el uso de proteínas marcadas con carbono 14 se ha comprobado en el perro, que el promedio de transferencia de globulinas a través de la membrana peritoneal es 3 veces más lenta que el de la albúmina y requiere de 2 ó más días para equilibrarse con el componente plasmático (68). Los estudios bioquímicos han permitido establecer que la LDH es una globulina y por tanto, su migración de un compartimiento a otro confronta los mismos obstáculos de esa fracción (19,61).

El hallazgo en la ascitis de los pacientes cirróticos de una actividad LDH total menor que la de la sangre, nos permite inferir que la misma debe corresponder al pequeño intercambio que ocurre entre ambos compartimientos más que a formación o liberación local de la enzima, porque en este caso, su proporción en el líquido ascítico sería mayor que la del suero sanguíneo.

A todos nuestros pacientes con cirrosis hepática, se les realizó la migración electroforética de la LDH tanto en el suero sanguíneo como en el líquido ascítico, y se encontró que las isoenzimas de la sangre eran bastante semejantes a las observadas en las personas normales, salvo en los casos que cursaron con signos de lesión celular activa en los cuales observamos un discreto ascenso de la fracción LDH₅. Los valores de las distintas fracciones en el líquido ascítico de este grupo de enfermos, no difieren significativamente de los obtenidos en el suero sanguíneo del mismo sujeto y el comportamiento electroforético de las isoenzimas, en términos generales, reveló un patrón isomórfico (Figura 10).

La relación entre las fracciones LDH₁/LDH₂ en el suero sanguíneo del grupo de pacientes cirróticos fue similar a lo encontrado en las personas sanas y los valores obtenidos en el líquido ascítico no difirieron significativamente de los hallados en el suero sanguíneo.

En la relación LDH₁/LDH₅, en el suero sanguíneo de los pacientes cirróticos, no hemos encontrado diferencias significativas en comparación con los valores observados en el suero sanguíneo de personas normales.

2. Insuficiencia cardíaca congestiva

En el suero sanguíneo de estos pacientes obtuvimos una actividad LDH total ligeramente su-

perior a lo constatado en los casos de cirrosis hepática. En catorce casos, los niveles de LDH en sangre estuvieron por encima de lo observado en personas normales y en los restantes no hubo modificación en relación con el patrón normal.

Los sujetos con evolución subaguda de su descompensación cardíaca fueron los que presentaron ascenso de la actividad LDH total en sangre, la cual estuvo relacionada con la liberación de la enzima de las células que todavía preservaban su función. Estos hallazgos concuerdan con los de Richman y col. (69) quienes observaron que el único parámetro de función hepática que establecía diferencia entre los casos de insuficiencia cardíaca aguda o crónica era la actividad enzimática y en efecto, en su análisis constataron marcado ascenso de las transaminasas glutámico oxaloacética y pirúvica directamente relacionada con la agudeza y severidad de la falla cardíaca derecha y a la presencia y extensión de la necrosis centrolobulillar hepática. Estas alteraciones no se hicieron tan evidentes en los casos de evolución crónica o prolongada. Resultados similares han sido reportados (2,70,71).

En ninguno de los casos de insuficiencia cardíaca congestiva, la actividad LDH total en ascitis fue mayor que la obtenida en el suero sanguíneo, de manera tal, que la relación LDH total ascitis/LDH total del suero sanguíneo, en ningún caso fue mayor que la unidad. Esta peculiaridad ha resultado característica de los derrames de origen benigno y, diversos autores (67,72), la han señalado como un elemento constante de los trasudados de origen benigno.

Hemos podido apreciar en este análisis que tanto los niveles de la enzima en el suero sanguíneo como en la ascitis del grupo de pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva, fueron ligeramente mayores que los evidenciados en los casos de cirrosis hepática y hemos atribuido este comportamiento enzimático a los fenómenos hipóxicos generalizados que ocurren en los tejidos en presencia de descompensación cardíaca.

La migración electroforética de las isoenzimas de la LDH en el suero sanguíneo de nuestros pacientes con insuficiencia cardíaca, mostró resultados sensiblemente similares a los obtenidos en el grupo normal, salvo la fracción LDH₅ que se encontró ligeramente más elevada en los enfermos con evolución subaguda de su cuadro de descompensación cardíaca.

En el líquido ascítico, hemos observado que en 24 de los 30 enfermos estudiados, la actividad de la fracción LDH₅ se encontró por encima de los valores obtenidos en el suero sanguíneo, de manera tal que en la mayoría de ellos, la migración electroforética de las isoenzimas en el derrame ascítico se debe a la producción local de la misma en la cavidad peritoneal como consecuencia de los fenómenos hipóxicos del área esplácnica que, a su vez, pudieran condicionar alguna de estas 2 eventualidades fisiopatológicas: 1. Lesión celular con ruptura de la membrana y salida de la isoenzima. 2. Activación del metabolismo anaeróbico con producción local de esta fracción de la LDH.

En todo caso, sea cual fuere el mecanismo patológico, el origen local de la isoenzima sería de pequeña cuantía y no alteraría substancialmente el comportamiento de las otras fracciones, tal como comentaremos más adelante en otras patologías, y su predominio en el derrame ascítico estaría favorecido por la dificultad que tiene la globulina enzimática para alcanzar el equilibrio entre los compartimientos vasculares y peritoneal (Figura 11).

Es importante señalar que no hemos observado diferencias en las alteraciones de la actividad de la LDH total ni de sus distintas isoenzimas en relación con la etiología de la cardiopatía de base; es decir, que en los pacientes con cardiopatía isquémica, miocarditis crónica chagásica y corazón pulmonar crónico con insuficiencia cardíaca, hemos apreciado modificaciones similares de la LDH, a diferencia cuando se considera el parámetro evolutivo como elemento de comparación, puesto que, en los casos de evolución aguda es frecuente encontrar ascenso de la actividad LDH₅, por la destrucción de las células hepáticas de la zona centrolobulillar a consecuencia de la congestión venosa, en la migración electroforética correspondiente al suero sanguíneo.

La relación de las fracciones LDH₁/LDH₂ en el suero sanguíneo fue similar a lo observado en los sujetos normales, porque, el patrón electroforético en ambas patologías fue isomórfico, es decir, similar al de los individuos sanos.

En el líquido ascítico la media para esta relación fue similar a lo obtenido en los pacientes cirróticos y en las personas normales.

El valor promedio de la relación LDH₁/LDH₅ en sangre y líquido ascítico fue ligeramente mayor que la de los pacientes con cirrosis hepática y la diferencia entre los resultados se explica por el

ligero aumento de la LDH₅ en el derrame peritoneal de los pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva.

3. Neoplasias malignas

En este grupo de pacientes con neoplasias malignas hemos, incluido doce casos en los cuales no se detectó metástasis en la cavidad peritoneal y veintidós en los cuales se evidenció desde el punto de vista clínico y paraclínico la extensión de la enfermedad tumoral a la serosa peritoneal. Los resultados en ambos grupos difirieron significativamente por lo cual merecerán comentarios aparte.

En los pacientes sin metástasis en la cavidad peritoneal, la actividad enzimática LDH total del líquido ascítico fue inferior a la obtenida simultáneamente en el suero sanguíneo y por ello, en todos los casos, la relación LDH total ascitis/LDH total suero sanguíneo fue menor que la unidad, similar a lo obtenido en pacientes con cirrosis hepática e insuficiencia cardíaca congestiva.

El análisis electroforético de las isoenzimas LDH en el suero sanguíneo y líquido ascítico en este grupo de pacientes sin metástasis peritoneal fue isomórfico, es decir, similar al patrón obtenido en las personas normales (Figura 12), el cual resultó común para los distintos tipos tumorales estudiados.

De estas observaciones podemos asumir, que al igual que en las afecciones crónicas no neoplásicas como la cirrosis hepática, la ascitis de estos individuos con tumores malignos no invasivos de la serosa peritoneal, es determinada por otros factores distintos de la producción activa ocasionada por la proliferación de células malignas en el peritoneo, tales como la hipoalbuminemia por desnutrición y por ello la síntesis peritoneal de la enzima es escasa o inexistente y por consiguiente, la actividad LDH es expresión de los fenómenos que ocurren en la sangre.

En relación con el líquido ascítico de los pacientes en quienes se evidenciaron metástasis peritoneales, obtuvimos un promedio de actividad LDH en el derrame ascítico, superior a la actividad del suero sanguíneo, de manera que, en todos los enfermos de este grupo, hemos encontrado una relación LDH total ascitis/LDH total suero sanguíneo mayor que la unidad. Este comportamiento de la LDH total en el derrame de origen tumoral ha resultado absolutamente diferente de lo que hemos constatado

en las ascitis de origen "benigno" y en los casos de pacientes con enfermedad tumoral sin invasión del peritoneo y por ello, podemos concluir que el predominio de la actividad LDH total del líquido ascítico sobre la del suero sanguíneo constituye una característica propia de la ascitis de origen "maligno".

Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por diversos autores, así López (2) encontró cambios similares en el 70% de sus enfermos con neoplasias malignas y Santoni (20) concluye en su trabajo que el aumento de los niveles enzimáticos en el líquido ascítico lo observó en sus casos con neoplasias malignas metastásicas al peritoneo y estima que las células tumorales dejan libre sus enzimas en el fluido, incrementando así su actividad.

Hsieh y col. (73) han realizado un interesante estudio en el cual se utilizó la LDH como un indicador para evaluar el crecimiento y regresión de diversos tumores malignos en la rata, llegando a las siguientes conclusiones: 1. La actividad LDH guarda estrecha relación con el tamaño del tumor y se incrementa a medida que aumenta la edad de la neoplasia. 2. El trasplante de un tumor a un animal previamente sano origina un cambio inmediato en la actividad de la enzima en el suero sanguíneo, fácilmente demostrable en los dos a tres días que siguen al trasplante. 3. La actividad LDH tiende a normalizarse cuando ocurre la regresión del tumor.

Horrocks y col. (74) señalan con base en los resultados de su investigación que el encuentro de una relación LDH ascitis/LDH suero sanguíneo mayor que la unidad obliga a la búsqueda de una neoplasia maligna que invade al peritoneo.

En el presente estudio, no hemos encontrado variación en el comportamiento de la LDH total en el líquido ascítico de acuerdo con el tipo histológico y el tejido en el que se originó el tumor, pero sí hemos observado una estrecha relación entre la actividad de la enzima y la actividad de la enfermedad neoplásica en la cavidad peritoneal. De manera tal, que en nuestros casos, la determinación de la actividad LDH tuvo valor pronóstico, puesto que, mientras mayor fue el incremento de la misma en el fluido peritoneal, más corto fue el período de sobrevivencia del paciente y esto indudablemente está relacionado con la extensión de la enfermedad tumoral.

Wroblewski (61) ha señalado que los derrames serosos que contienen células cancerosas, pueden ser considerados como un medio de cultivo "in

vivo" de las mismas y que la LDH por ser una globulina, no se intercambia fácilmente con el constituyente plasmático, lo cual favorece y mantiene el ascenso de su concentración en la ascitis cuando la enzima se produce en mayor cantidad como consecuencia del proceso neoplásico.

El estudio electroforético de isoenzimas LDH en el suero sanguíneo de ambos grupos de pacientes con enfermedades tumorales (con metástasis peritoneales y sin ellas), al igual que en el líquido ascítico de los enfermos sin afecciones tumorales mostró un patrón isomórfico similar a lo obtenido en los sujetos normales.

En los enfermos en quienes la afección tumoral se había propagado a la cavidad peritoneal, observamos cambios en la distribución de las isoenzimas de la LDH en el líquido ascítico que difieren de los hallazgos obtenidos en los grupos estudiados y las mismas han tenido una importante significación estadística. En este grupo de pacientes, hemos observado un franco descenso de la actividad de la fracción LDH₁ y LDH₂. Por el contrario, la actividad de la isoenzima LDH₄ y, particularmente, la LDH₅ se encontraron significativamente elevadas en el líquido ascítico, a diferencia de lo que ocurre en el suero sanguíneo.

Estas modificaciones en relación con las isoenzimas LDH₁, LDH₂, LDH₄ y LDH₅ constatadas en la ascitis relacionada con metástasis de la serosa peritoneal, configuran un patrón electroforético en el cual la actividad de la LDH se incrementa desde la isoenzima LDH₁ hasta la LDH₅; es decir, que en estos derrames de origen neoplásico encontraremos una bajísima actividad LDH₁ y LDH₂ con notable incremento de la LDH₄ y particularmente LDH₅. Este patrón electroforético ha resultado diferente a los observados en las otras patologías estudiadas y por ello lo hemos designado "patrón maligno" de la LDH, queriendo, con este término, señalarlo como característico de las afecciones tumorales que han invadido la cavidad peritoneal (Figura 13-15).

En 1913, Warburg (75) afirmó que la diferencia entre las células normales y las cancerosas estriba en el irreversible compromiso de la respiración que ocurría en estas últimas y que la consecutiva falta de energía de este origen era compensada mediante un incremento de la glucólisis anaerobia. Este importante señalamiento tuvo poca aplicación hasta que Hill y Levi (76) en 1954 encontraron que la actividad de la enzima final del ciclo anaeróbico (lactato deshidrogenasa) estaba aumentada en el suero de

algunos pacientes con enfermedades malignas y demostraron posteriormente, que la suspensión de células tumorales en solución salina isotónica condicionaba una elevación de la actividad enzimática en el fluido, a diferencia de la que ocurría cuando la suspensión era de eritrocitos. Sobre la base de este trabajo, Wroblewski (61) en 1957, realizó el estudio de los derrames peritoneales y pleurales que contenían células malignas y postuló que estas células contribuían a la actividad de la LDH del líquido que las circundaba y que bajo estas circunstancias, podría esperarse que los derrames serosos que estaban en contacto o tenían células tumorales malignas, tendrían una actividad LDH mayor que la del suero sanguíneo del mismo individuo y que, por el contrario, en los líquidos de origen benigno sería menor que la obtenida en sangre. La diferencia de actividad de la enzima en el derrame y el suero sanguíneo en los pacientes con neoplasias malignas fue explicada por este autor como debida a que la LDH por ser una globulina, no atraviesa con facilidad las membranas serosas y, por consiguiente, no alcanza el equilibrio entre ambos compartimientos.

Para otros autores, el interés fundamental ha sido determinar si la elevación de la actividad de la LDH en el exudado es el resultado de lisis celular o si depende de la simple difusión y filtración de la enzima a partir de las células malignas. Wu y Sung (77) han postulado que el incremento de los niveles de LDH en los fluidos que rodean tumores, resulta de la difusión de la enzima o de su escape a través de la pared celular hasta el medio líquido en el momento de la división celular y experimentalmente se ha demostrado que el aumento de la actividad de la enzima está relacionada con la rata de crecimiento del tumor y no al tipo de célula.

Más recientemente, los investigadores se han dedicado al estudio, mediante fraccionamiento electroforético de las isoenzimas LDH en los homogenizados de tejidos tumorales y desde los trabajos de Goldman y col. (78) Landvad (79) y Pérez Cuadrado (no publicado), se conoce que la principal característica del patrón de isoenzimas LDH en los tumores malignos es el incremento de los valores LDH₅. En 1978, Carda Abella y col. (80) concluyeron que el patrón enzimático en los tumores malignos es el incremento de la fracción LDH₅ con disminución de la actividad de LDH₁.

Segnini y Marín de Peroza (no publicado) estudiaron la actividad de las isoenzimas LDH, por

electroforesis, en el tejido uterino de mujeres afectadas de cáncer y evidenciaron un modelo (H + M) en los casos normales; en aquellas que presentaban una displasia leve se encontró una ligera distorsión de dicho modelo y se hizo más acentuada en las pacientes que presentaron afecciones neoplásicas, con nítido predominio de las subunidades tipo "M" (LDH₄, LDH₅).

A la luz de estos conocimientos, quedarían dos interrogantes por responder:

¿Es el cáncer precedido por una alteración en el patrón de isoenzimas LDH?

¿Son las modificaciones de las isoenzimas un resultado directo del proceso tumoral?

Nuestros hallazgos en el líquido ascítico tumoral concuerdan plenamente con los hallazgos reportados por Carda Abella y col. en el estudio de los homogenizados de adenocarcinoma gástrico (80), y por Segnini y Marín de Peroza (81), en el tejido uterino neoplásico, y por ello podemos concluir que el patrón de isoenzimas LDH por nosotros observados en el líquido ascítico de origen maligno, representa la fiel expresión de lo que acontece desde el punto de vista metabólico en la masa tumoral localizada en el peritoneo y, por consiguiente, el estudio del mismo en el líquido ascítico constituye un elemento de extraordinario valor cuando se pretende establecer si la ascitis puede ser atribuida a la enfermedad neoplásica o si esta ocurriendo por la interconurrencia de otros factores no dependientes del proceso tumoral.

En el presente análisis, hemos podido comprobar que en los casos de neoplasias malignas que cursaban con metástasis peritoneales, existía una modificación característica en el patrón electroforético de las isoenzimas de LDH que no lo observamos en los casos de cirrosis hepática, insuficiencia cardíaca, ni en los casos misceláneos, ni en tumores que no habían sembrado la cavidad peritoneal y que fundamentalmente consistía en la elevación muy significativa de la actividad de las fracciones de la enzima rica en monómeros M como son la LDH₄ y, principalmente, la LDH₅, acompañándose de importante descenso de las isoenzimas que contienen monómeros H como son la LDH₁ y la LDH₂, conformando en definitiva un gráfico en el cual ocurre un ascenso progresivo de la actividad de las isoenzimas desde la LDH₁ hasta la LDH₅, que resulta la fracción predominante.

En la relación LDH₁/LDH₂ del líquido ascítico observamos que en los pacientes con metástasis en

la cavidad peritoneal presentaron cifras significativamente más bajas que la obtenida en los pacientes con cirrosis hepática, insuficiencia cardíaca congestiva y en las neoplasias malignas sin metástasis en la cavidad peritoneal.

En la relación LDH_1/LDH_5 del líquido ascítico de paciente con invasión tumoral del peritoneo, constatamos valores significativamente muy bajos comparados con los del líquido ascítico de las personas afectadas de cirrosis hepática, insuficiencia cardíaca congestiva y en las neoplasias malignas sin metástasis peritoneal.

Evidentemente, que la aplicabilidad clínica del estudio de la LDH total y sus isoenzimas en el líquido ascítico, sobrepasan el simple nivel de la metodología diagnóstica diferencial para constituirse en un significativo pilar del juicio evolutivo y pronóstico en estos enfermos, puesto que el hallazgo del patrón que hemos señalado como característico de los procesos malignos indica la siembra peritoneal de la afección tumoral y con ello, la restricción de las posibilidades terapéuticas y de sobrevida del paciente.

Por otra parte, hacemos notar que en nuestro análisis no hemos encontrado diferencias en la distribución de las isoenzimas en relación con el tipo de origen del tumor; es decir, que para todos los casos de carcinomas metastásicos o de enfermedades malignas hematológicas hemos observado las mismas modificaciones de las distintas fracciones LDH. Estos resultados permiten concluir que la reorientación en el patrón de isoenzimas, debe corresponderse con una alteración del comportamiento metabólico de la célula tumoral que es independiente de las características del tejido que las originó.

La actividad de la LDH debe ser compatible con la formación de lactato a partir del piruvato en el músculo, puesto que el tejido muscular depende particularmente de la vía anaeróbica de los carbohidratos para obtener su energía durante el ejercicio. Por el contrario, el corazón genera su energía por la vía del metabolismo aeróbico, de manera tal, que la acción de la LDH cardíaca está dirigido a la oxidación del lactato para incrementar las concentraciones de piruvato y permitir que éste entre en el ciclo del ácido cítrico.

Estas observaciones nos permiten señalar que la LDH de acuerdo con el tipo de isoenzima predominante, se adapta a los requerimientos metabólicos de los tejidos.

La variabilidad en la distribución de las isoenzimas LDH en los diferentes tejidos y su ascenso en las diversas condiciones patológicas es un hecho que se encuentra íntimamente ligado al metabolismo intrínseco de la célula. El ácido láctico, constituye una reserva de hidrógeno y la LDH regula cuidadosamente su liberación y acumulación para asegurar el continuo suministro de energía, manteniendo el pH dentro de los límites de tolerancia tisular.

Puesto que los requerimientos energéticos y la tolerancia al pH varían de una célula a otra, dependiente de su función, los patrones de las isoenzimas de la LDH necesariamente también lo harán y así, aquellos tejidos que pueden soportar un medio relativamente ácido con poca dificultad y requiere producir y disponer de grandes cantidades de lactato, tendrán una alta concentración del monómero "M", que actúa fundamentalmente en medios anaeróbicos y por tanto, en su patrón de isoenzimas, predominarán las fracciones LDH_4 y LDH_5 .

Indudablemente que en la célula neoplásica se originan importantes cambios metabólicos previo al hallazgo de las alteraciones morfológicas y, por ello, creemos que el estudio de la LDH y sus isoenzimas abre un interesante campo en la investigación de los procesos malignos.

Las diferencias encontradas en los distintos grupos analizados resultaron muy significativos desde el punto de vista estadístico y podemos señalar que los valores obtenidos en el líquido ascítico de las neoplasias metastásicas fueron un elemento de importante valor diagnóstico que nos permitió deslindarlos de los casos de origen benigno, en razón de que expresaban, evidentemente, la elevación de la fracción LDH_5 en el fluido ascítico.

Hacemos notar que los resultados encontrados en la ascitis de los pacientes con insuficiencia cardíaca, representan la situación intermedia entre la cirrosis hepática y los casos de carcinoma, lo cual está condicionado por los fenómenos de hipoxia moderada que ocurren en los órganos de la cavidad abdominal en los casos de falla del corazón como bomba; de manera tal que, en resumen, podemos señalar que cuando la relación LDH_1/LDH_5 es menor que la unidad, existe una alta probabilidad de neoplasia maligna en el peritoneo.

Finalmente, queremos recalcar que en nuestra experiencia, el estudio de la LDH total y sus diferentes fracciones de isoenzimas produce un conjunto de elementos de valiosa significación para

el establecimiento del pronóstico en los casos de tumores malignos, hecho éste que también ha sido utilizado por otros autores en patologías como el infarto del miocardio mediante la determinación de enzimas como la LDH, la creatinfosfoquinasa y la hidroxibutírico deshidrogenasa.

4. Misceláneas

En este grupo fueron incluidos dos casos de tuberculosis peritoneal y 1 caso de trombosis de las venas suprahepáticas.

Los valores de LDH total en el suero sanguíneo en los dos casos de afección tuberculosa del peritoneo fueron mayores que los obtenidos en el líquido ascítico, por lo que la relación LDH total ascitis/LDH total suero sanguíneo en ambos casos no alcanzó el valor de la unidad como ya hemos señalado en los trasudados de origen benigno.

Desde el punto de vista electroforético, en ambos casos se encontró discreto incremento de la fracción LDH₅, pero sin llegar a conformar un patrón característico de isoenzimas, tanto en el suero sanguíneo como en el líquido ascítico.

En el caso de trombosis de las venas suprahepáticas los niveles de LDH total fueron normales para sangre y derrame ascítico y el patrón electroforético de las isoenzimas fue similar al de los pacientes cirróticos (isomórfico).

Finalmente, para concluir, debemos señalar que el conocimiento de todos los hechos anteriormente discutidos permite afirmar que la enzimología aplicada a la clínica, constituye permanentemente, un campo abierto para la investigación y un reto constante para la adquisición de nuevos elementos de diagnóstico.

REFERENCIAS

1. Dawson AD. Historical notes on ascitis. *Gastroenterol* 1960;39:790-791.
2. López JE. Diagnóstico diferencial del síndrome ascítico mediante el estudio bioquímico y electroforético. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela. Valencia, Estado Carabobo 1962.
3. Hyatt RE, Smith JR. The mechanism of ascitis. A physiologic appraisal. *Am J Med* 1954;16:434-448.
4. Bruni Celli B, Valencia Parpacén J, Beker S. La biopsia del hígado en el cáncer del hígado. *GEN* 1959;13:131-137.
5. Valencia Parpacén J, Carbonell L, Bruni Celli B, Salomón R, Beker S. La biopsia hepática por punción en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas. *GEN* 1960;15:53-110.
6. Murphy WM, NG AB. Determination of primary site by examination of cancer cells in body fluids. *Am J Clin Pathol* 1972;58:479-488.
7. Mc Gugkin WF, Soule EH, Cain JC, Bartholomew LG, Rovelstad RA. Ascites III. The value of glycoprotein determination and cytology in the study of ascitic fluid. *Gastroenterol* 1959;37:332-338.
8. Foot NCh. The identification of neoplastic cells in serous effusions. Critical analysis of smears of 2 029 persons. *Am J Pathol* 1956;32:961-977.
9. Sampliner RE, Iber FL. High protein ascites in patients with uncomplicated cirrhosis of the liver. *Am J Med Sci* 1974;267:275-279.
10. Witte MH, Witte CL, Davis WM. Peritoneal transudate: A diagnostic clue to portal system obstruction in patients with intraabdominal neoplasm or peritonitis. *JAMA* 1972;221:1380-1383.
11. Witte MH, Witte CL, Dumont AE. Progress in liver disease. Physiological factors involved in the causation of cirrhotic ascites. *Gastroenterol* 1971;61:742-750.
12. López JE. Las proteínas del líquido ascítico comparadas con las del suero sanguíneo. *Sangre* 1961;6:155-178.
13. López JE. Glucoproteínograma por el método electroforético en diversas entidades patológicas. *GEN* 1961;16:85-95.
14. López JE. Glucoproteínas séricas estudiadas por método electroforético en papel. *GEN* 1961;16:97-103.
15. López JE. Estudio de las glucoproteínas séricas por métodos químicos y electroforético en papel. *Rev Fac Farm* 1961;2:12-35.
16. Taipale E, Hokkanen E. The mucoprotein levels in the ascitic and pleural fluid and their clinical significance. *Acta Med Scand* 1956;155:113-124.
17. López JE. Determinación de la fracción ácido perclórico soluble / ácido fosfotúngstico insoluble en el líquido ascítico y en el suero. *GEN* 1961;16:105-114.
18. López JE. Estudio del seromucoide en el suero y líquido ascítico, basado en 100 observaciones. *Rev Fac Farm* 1961;2:174-185.
19. Wroblewski F. Increasing clinical significance of alterations in enzymes of body fluids. *Ann Intern Med* 1959;50:62-93.
20. Santoni G. Interesse clinico delle ricerche enzimatiche nel liquido ascitico da neoplasia ovarica maligna. *Minerva Gin* 1959;677-681.

21. Fleisher GA, Bartholomew LG, Cain JC, Rovelstad RA. Ascites II. The value of determination of enzymes in the study of ascitic fluid. *Gastroenterol* 1959;37:325-331.
22. López JE. Determinación de las transaminasas glutámico oxaloacética y glutámico pirúvica en el líquido ascítico y en el suero sanguíneo. *Rev Fac Farm* 1961;2:298-309.
23. López JE. Estudio de la deshidrogenasa láctica en suero sanguíneo y líquido ascítico basado en 100 observaciones. *Acta Cient Venez* 1961;12:153-157.
24. López JE. Deshidrogenasa láctica. Determinación de su actividad en el líquido ascítico y en el suero sanguíneo. *GEN* 1961;16:115-122.
25. López JE. Estudio de la aminopeptidasa de leucina en el suero sanguíneo y en el líquido ascítico basado en 100 observaciones *GEN* 1962;16:387-394.
26. Donowitz M, Kerstein MD, Spuro HM. Pancreatic ascites. *Medicine* 1974;53:183-195.
27. Rovelstad RA, Bartholomew LG, Cain JC, Mc Kenzie BF, Soule EH. Ascites I. The value of examination of ascitic fluid and blood for lipids and for proteins by electrophoresis. *Gastroenterol* 1958;34:436-450.
28. López JE. Determinación de los lípidos totales en el líquido ascítico y en el suero sanguíneo. *GEN* 1962;17:81-92.
29. López JE, Matute E, Hernández E. Determinación de la deshidrogenasa láctica y de la transaminasa glutámico oxaloacética en el líquido cefalorraquídeo. *Acta Cient Venez* 1962;13:16-19.
30. López JE. Determinación de las transaminasas glutámico oxaloacética y glutámico pirúvica y de la deshidrogenasa láctica en las enfermedades del hígado y de las vías biliares. Análisis de 104 observaciones. *GEN* 1963;17:415-430.
31. López JE. Estudio de la deshidrogenasa isocítrica en el suero sanguíneo de pacientes con enfermedades hepatobiliares. Análisis de 108 observaciones. *GEN* 1964;18:197-207.
32. López JE. Estudio de la actividad de la fosfohexosa isomerasa sérica en pacientes con enfermedades del hígado y de las vía biliares. *GEN* 1966;20:559-572.
33. López JE. Determinación de la aldolasa sérica en pacientes con enfermedades hepatobiliares. Análisis de 121 observaciones. *Acta Cient Venez* 1963;14:10-13.
34. López JE. Determinación de las transaminasas glutámico oxaloacética, glutámico pirúvica y de las deshidrogenasas láctica e isocítrica en el suero sanguíneo de pacientes con miocarditis crónica chagásica. *Arch Inst Cardiol Mex* 1966;36:730-737.
35. Toro E, Rovero C de. Determinación sérica de la deshidrogenasa málica en el embarazo. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1964;24:689-701.
36. Genatios C, Barrios C de. La isocítrico-deshidrogenasa sérica en el embarazo. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1964;24:677-689.
37. Villalobos H, Olivares G, Sanchez E. Valoración de la deshidrogenasa láctica en la embarazada normal a término. *Invest Clin* 1963;7:49-54.
38. Booth SN, Lakin G, Dykes PV, Burmett D, Bradwell AR. Cancer associated proteins in effusions fluid. *J Clin Pathol* 1977;30:537-540.
39. Hass JF. Carcinoembryonic assay (carta). *Ann Intern Med* 1978;89:424.
40. Pare P, Talbot J, Hoefs JC. Serum ascites albumin concentration gradient: A physiologic approach to the differential diagnosis of ascites. *Gastroenterol* 1983;85:240-244.
41. Rector WJ, Reynolds IB. Superiority of the serum ascites albumin difference over the ascites total protein concentration in separation of "transudative" and "exudative ascites". *Am J Med* 1984;77:83-85.
42. Scholmerich J, Volk BA, Kottgen E, Ehlers S, Gerok W. Fibronectin concentration in ascites differentiate between malignant and non malignant ascites. *Gastroenterol* 1984;87:1160-1164.
43. Colli A, Buccino G, Cocciolo M, Parravicini R, Mariani F, Scaltrini GC. Diagnostic accuracy of fibronectin in the differential diagnosis of ascites. *Cancer* 1986;58:2489-2493.
44. Prieto M, Goez-Lecho M, Hotos M, Castell JV, Carrasco D, Berenguer J. Diagnosis of malignant ascites comparison ascitic fibronectin, cholesterol and serum ascitic albumin difference. *Dig Dis Sci* 1988;33:833-838.
45. Colli A, Buccino G, Cocciolo M, Parravicini R, Mariani F, Scaltrini GC. Diagnostic accuracy of sialic acid in the diagnosis of malignant ascites. *Cancer* 1989;63:912-916.
46. Runyon BA, Hoefs JC, Morgan TR. Ascitic fluid analysis in malignant related ascites. *Hepatology* 1988;8:1104-1109.
47. Runyon BA. Elevated ascitic fluid fibronectin concentration: A non specific finding. *J Hepatol* 1986;3:219-222.
48. Villar M, García-Bragado F, Villardell M, Biosca M, Rodrigo MJ, Shwartz S. Fibronectin concentration does not differentiate between malignant and non malignant ascites. *Gastroenterol* 1988;44:556-557.
49. Berger L, Broida D. The colorimetric determination of lactic dehydrogenase in serum or other fluids at 400 to

LACTATO DE DESHIDROGENASA TOTAL

- 500 milimicras. Technical bulletin N° 500. Sigma Chemical Company, 1960.
50. Helena Laboratories Corporation. LDH isoenzymes, 1976.
 51. Vesell ES. Significance of the heterogeneity of lactic dehydrogenase activity in human tissues. *Ann NY Acad Sci* 1961;94:877-889.
 52. Markert CL, Moller F. Multiple forms of isoenzymes. Tissue, ontogenetic and species specific patterns. *Proc Nat Acad Sci* 1959;45:753-756.
 53. Markert CL, Apella E. Physicochemical nature of isoenzymes. *Ann NY Acad Sci* 1961;678-690.
 54. Wieme RJ. Nomenclature of so called isoenzymes (carta) *Lancet* 1962;1:270.
 55. Zimmerman HJ, Weinstein HG. Lactic dehydrogenase activity in human serum. *J Lab Clin Med* 1956;48:607-616.
 56. West M, Gelb D, Pilz GC, Zimmerman HH. Serum enzymes in diseases. III. Significance of anormal serum enzymes levels in cardiac failure. *Am J Med Sci* 1961;241:350-358.
 57. Amador E, Potchen EJ. Serum lactic dehydrogenasa activity and radioactive lung scanning in the diagnosis of pulmonary embolism. *Ann Intern Med* 1966;65:1247-1255.
 58. Wroblewski F, Gregory KF. Lactic dehydrogenase isoenzymes and their distribution in normal tissues and plasma and in disease states. *Ann NY Acad Sci* 1961;94:912-932.
 59. Paloheimo JA, Ikkala E. Serum lactic dehydrogenase activity and isoenzymes patterns in some hematological diseases. *Acta Med Scand* 1965;177:115-120.
 60. López JE, Marcano M, Peña JR, Quintini A. Determinación de la lactato deshidrogenasa total y sus isoenzimas en diversas entidades patológicas. *GEN* 1979;33:63-95.
 61. Wroblewski F. The clinical significance of alteration in lactic dehydrogenase activity of body fluids. *Am J Med Sci* 1957;234:301-312.
 62. Wroblewski F. The significance of alterations in lactic dehydrogenase of body fluids in the diagnosis of the malignant tumors. *Cancer* 1959;12:27-39.
 63. Cabaud PH, Wroblewski F. Colorimetric measurement of lactic dehydrogenasa activity of body fluids. *Am J Clin Path* 1958;30:234-236.
 64. Torregrosa MV. Results of lactic dehydrogenase determinations in benign and malignant effusions. *Am J Med Sci* 1959;238:552-556.
 65. Meeroff M, Kalinov A, Aschkenazi S, Meeroff JC. Dehydrogenasa láctica en sangre y líquido ascítico. *GEN* 1966;20:665-672.
 66. Bondia M, Del Arco JA, Pérez D. Valoración enzimática en el suero y líquidos de exudados y trasudados de origen benigno y maligno. *Rev Clin Española* 1972;127:1073-1079.
 67. Wroblewski F, Wroblewski R. The significance of lactic dehydrogenase activity of serous effusions. *Ann Intern Med* 1958;48:813-822.
 68. Mc Kee FW, Yuile CL, Lamson BG, Whipple GH. Albumin and globulin circulation in experimental ascites. Relative rates of interchange between plasma and ascitic fluid studied with C14 labeled protein. *J Exp Med* 1952;95:161-172.
 69. Richman SM, Delman AJ, Grob D. Alterations in indices of liver function in congestive heart failure with particular reference to serum enzymes. *Am J Med* 1961;30:211-225.
 70. Cohen L, Djordevich J, Ormiste V. Serum lactic dehydrogenase isozyme pattern in cardiovascular and other diseases with particular reference to acute myocardial infarction. *J Lab Clin Med* 1964;64:355-374.
 71. Snodgrass PJ, Wacker WE, Eppinger EC, Vallee BL. Metalloenzymes and myocardial infarction III. Lactic dehydrogenase activity of serum. A determinate diagnostic measurement. *N Engl J Med* 1959;261:1259-1266.
 72. Schumacher K, Bohm P, Borner G. Differential diagnose von ergüasen durch bestimmung der laktatedehydrogenase in der engumflussigkert. *Med Welt* 1966;6:281-284.
 73. Hsieh KM, Suntzeff V, Coudry EV. Serum lactic activity as indication of neoplastic growth and regreition. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955;89:627-629.
 74. Horrocks JE, King J, Waid APB, Ward J. Lactate dehydrogenase activity in the diagnosis of malignant effusions. *J Clin Path* 1962;15:57-61.
 75. Warburg O. *Plügere arch ges. Physiol* 1913;154:599.
 76. Hill BR, Levi C. Elevation of a serum component in neoplastic disease. *Cancer Res* 1954;14:513-515.
 77. Wu CH, Sung JL. Clinical study of lactic dehydrogenase. *Gastroenterol* 1962;42:580-587.
 78. Goldman RD, Kaplan NO, Hall TG. Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissues. *Cancer Res* 1964;24:389-399.
 79. Langvad E. LDH isoenzyme patterns in tumor bearing colon. *Int J Cancer* 1968;3:17-29.
 80. Carda P, Pérez Cuadrado S, Mate J. LDH isoenzymes patterns in human gastric mucosa with precancerous changes. *Cancer* 1978;42:490-494.