

11262

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
DIVISION DE ESTUDIOS SUPERIORES
FACULTAD DE MEDICINA
CURSO DE MAESTRIA Y DOCTORADO

TRABAJO DE INVESTIGACION CLINICA

ALTERACIONES SERICAS DE LA DESHIDROGENASA LACTICA Y SUS
ISOENZIMAS, COMO PARAMETROS DE INVASIVIDAD, MALIGNIDAD
Y RESPUESTA A LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS, EN PACIEN-
TES CON CARCINOMA EPIDERMOIDE CERVICOUTERINO,

Aspirante al grado de Maestro en Ciencias Médicas
(Cirugía Oncológica):

DRA. MARTHA ELISA PIÑA BARBA

Tutor Académico:

DR. JOSE NORIEGA LIMON

Colaboradores:

DRA. LILIA KRZEPTOWSKY

Profesor Titular del Curso de Maestría y Doctorado:

DR. JESUS KUMATE RODRIGUEZ

Instituto Nacional de Cancerología. Secretaría de Salubridad
y Asistencia. México, D.F.

FALLA DE ORIGEN

1 9 8 0



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

	Pág.
RESUMEN	2
INTRODUCCION	3
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS	11
DISCUSION	26
CONCLUSIONES	49
BIBLIOGRAFIA	51

RESUMEN:

Se estudió la actividad de la DHL total y sus fracciones-isoenzimáticas en el suero de 100 pacientes portadoras de cáncer cervicouterino en sus cinco diferentes etapas clínicas y de 27 mujeres sanas. Se compararon los resultados entre el grupo problema y el grupo testigo, y entre una muestra previa y otra 6 meses posterior al tratamiento del grupo problema.

Se demostró que existe un patrón isoenzimático de tipo anaeróbico en las pacientes en etapa clínica 0 y IV, siendo reversible después del tratamiento únicamente en el primer caso, en el cual sí se obtuvo respuesta del tumor al tratamiento quirúrgico, a diferencia del segundo caso en que no hubo curación. Se revisa la literatura, encontrando que no existe precedente de un trabajo similar. Se hacen consideraciones teóricas y fisiopatogénicas.

INTRODUCCION.

Desde hace más de 10 años, diversos investigadores se han dedicado al estudio de varias enzimas y posteriormente al análisis de sus isoenzimas, con la finalidad de observar su relación con la existencia de un proceso tumoral, benigno o maligno; así como tratando de establecer la relación con el grado de malignidad del tumor, con la etapa clínica del mismo, con el tipo histológico del tumor y con las modificaciones resultantes de los tratamientos antitumorales instituidos. Las mediciones de actividad enzimática e isoenzimática, se han practicado tanto en suero como en homogeneizado de tejidos, en líquidos parenterales, en líquidos de irrigación, etc.

En general, la mayoría de estos trabajos de investigación son publicados por autores pertenecientes a países con un alto grado de desarrollo socioeconómico y por lo tanto científico, por lo cual, sus investigaciones se dirigen hacia los tumores que son frecuentes e importantes en dichos países, tales como el cáncer de mama, cáncer broncogénico, etc., y poco o nada a la investigación de tumores frecuentes en países subdesarrollados como el nuestro, en donde el carcinoma cervicouterino, sabemos que ocupa el primer lugar de importancia. Por el contra

rio, en otros países, este tumor está prácticamente erradicado.

El cáncer cervicouterino tiene en México una incidencia de 3.20/100,000 habitantes, reportándose tasas anuales de mortalidad por cáncer cervicouterino de 20.3 / 100,000 mujeres de 15 a 74 años de edad. Además, el cáncer cervicouterino ocupa el primer lugar de frecuencia (35%) de todos los tumores malignos en nuestro país.

Por todo lo anterior, el cáncer cervicouterino constituye uno de los principales problemas de salud, máxime si tenemos en cuenta que afecta a las mujeres precisamente en la edad de mayor productividad (Gráfica I).

No tenemos hasta el momento un método confiable y sencillo para evaluar la respuesta de este tumor al tratamiento, ni para monitorear a las pacientes tratadas, a fin de detectar la reaparición de actividad tumoral por recurrencia.

En el presente trabajo, intentamos desarrollar y evaluar una prueba paraclínica (dosificación de DHL sérica y sus isoenzimas) de fácil realización, que pueda ayudarnos a resolver las interrogantes planteadas.

No hay antecedentes en la literatura científica de una investigación de esta índole.

El cáncer es el único proceso patológico, cuya evolución está ligada al crecimiento celular, ya que él mismo es un proceso de reproducción celular. Aunque de forma anormal, utiliza reacciones enzimáticas, procesos metabólicos y mecanismos genéticos similares cualitativamente, pero no cuantitativamente, a su pariente, la célula normal.

El hecho de que el patrón bioquímico es heredable y que el aporte genético es estable, como se manifiesta en la constancia de la malignidad biológica y en el patrón bioquímico de las diferentes líneas tumorales, corroboraría la hipótesis de que un desbalance en los mecanismos moleculares es el responsable del ordenamiento bioquímico de la estrategia de la célula cancerosa.

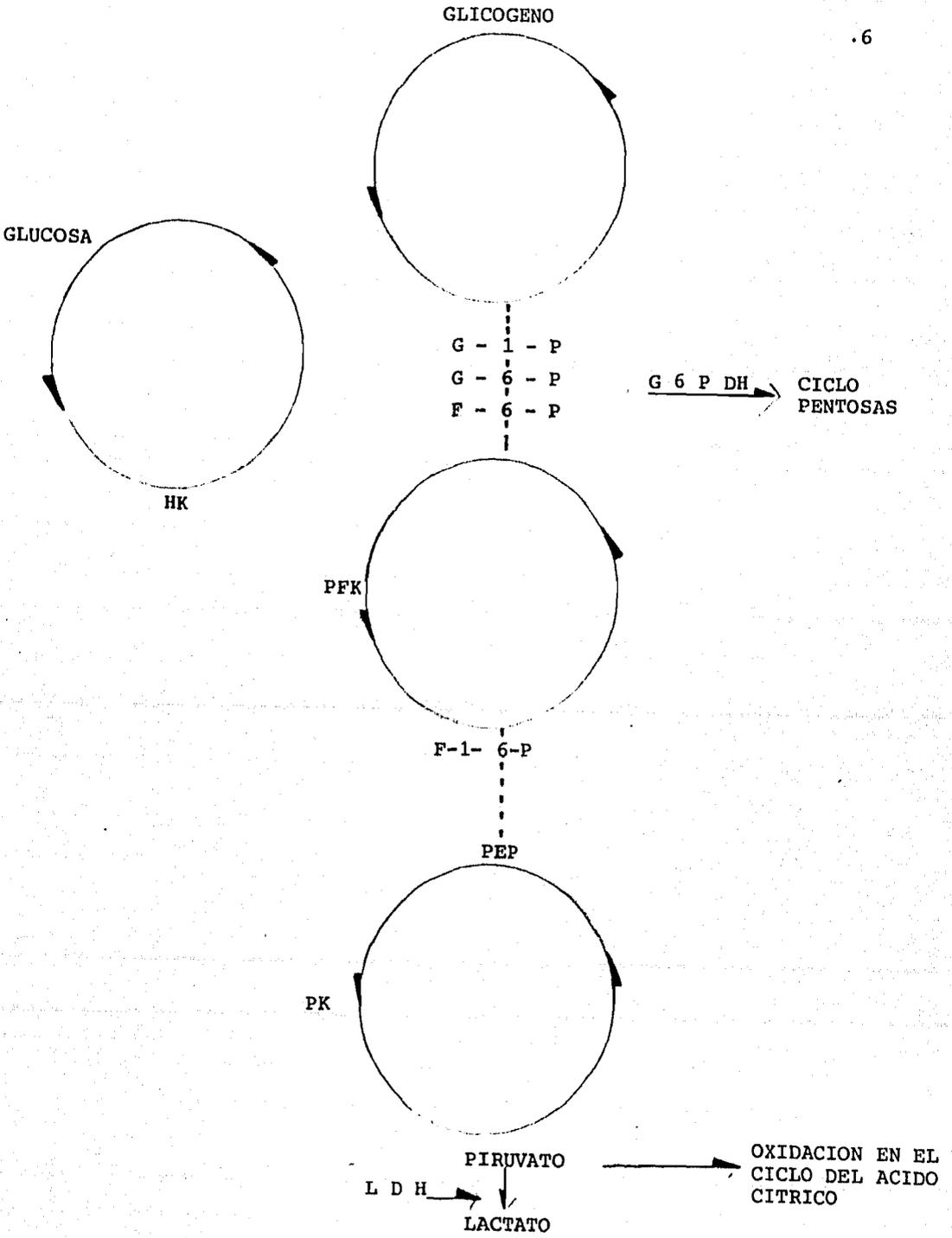
Sabemos que las neoplasias tienen características metabólicas diferentes a los tejidos normales. Se ha visto que desde su inicio en el desarrollo de una neoplasia, hay alteraciones en la actividad respiratoria celular, observándose una gran tendencia a derivar energía a partir de la glicólisis anaeróbica, con producción aumentada de ácido láctico. La DHL es la enzima que está al final de la cadena de la glicólisis anaeróbica, por lo que se observa aumento de ella en las pacientes con neoplasias. (Figura No. 1). Los tumores producen ácido láctico a una velocidad de 2% de su peso en fresco por hora.

A pesar de la multiplicidad de hipótesis que se han emiti-

FIGURA No. 1 CICLO

GLICOLITICO

.6



do sobre el origen de la DHL en los tejidos y en el suero de los enfermos portadores de neoplasias, no se ha logrado aún establecer en forma precisa su punto de partida. Sin embargo un hecho ahora incontrovertible es que hay un franco incremento en la actividad de las enzimas glicolíticas en los enfermos con cáncer, que es mayor entre mayor sea el índice de crecimiento tumoral, o mayor la masa tumoral, y que esta hiperactividad enzimática cesa al tratarse el enfermo.

Partiendo de esta información, nosotros pensamos que el carcinoma cervicouterino debía comportarse en una forma similar y por lo tanto, que podíamos reconocer su presencia primaria, su recurrencia y su grado de actividad neoplásica, identificando, en el suero de estos enfermos un aumento de la glicólisis anaeróbica, manifestada tanto por un incremento en la DHL total, como por una desviación de las bandas isoenzimáticas tipo corazón, hacia los de tipo músculo.

MATERIAL Y METODOS:

Se estudiaron 100 pacientes portadoras de cáncer cervicouterino, que acudieron en forma consecutiva a la consulta de ginecología del Instituto Nacional de Cancerología, de Enero - 1978 a Febrero de 1979. El grupo testigo fué integrado por 27 mujeres sanas que acudieron al servicio de Detección Oportuna del Cáncer del mismo hospital, en el mes de enero de 1978.

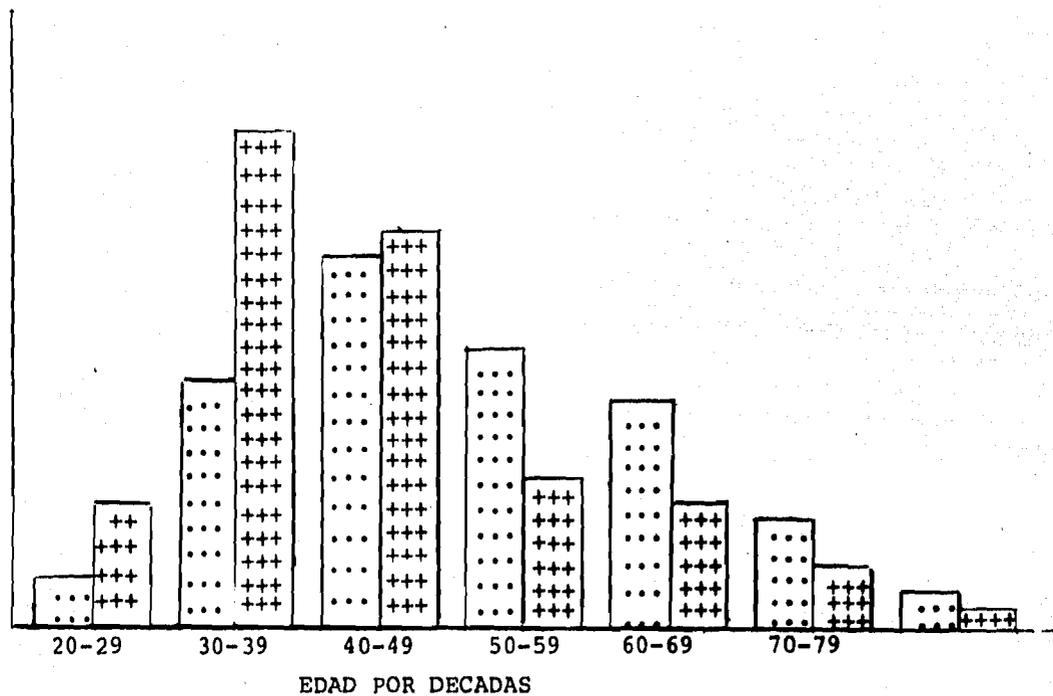
La distribución por etapa clínica de las 100 pacientes con cáncer cérvicouterino fué la siguiente:

<u>ETAPA CLINICA</u>	<u>No. CASOS</u>
0 o "in situ"	10
I	13
II	39
III	20
IV	18
Grupo testigo	27

La distribución por edades de las pacientes del grupo problema y testigo fué la siguiente:

GRAFICA I.

INCIDENCIA POR EDADES DE CANCER IN SITU E INVASOR
DEL CUELLO DE LA MATRIZ



...cáncer cervicouterino invasor

•••cáncer cervicouterino in situ

	Edad Máxima	Edad Mínima	Edad Media
Grupo problema	73 años	29 años	40.58
Grupo testigo	54 años	20 años	33.23

Una vez establecido el diagnóstico de positividad histopatológica a cáncer y clasificadas las pacientes en las diferentes etapas clínicas, fueron sometidas al siguiente protocolo experimental:

- a) Toma de primera muestra de sangre venosa periférica (5 ml.)
- b) Procedimiento terapéutico de elección según la etapa-clínica correspondiente:

Etapa 0: Cirugía (Panhisterectomía).

Etapa I, II, III y IV: Radioterapia radical

(Cobaltoterapia externa y Radium intracavitario)

- c) Toma de segunda muestra de sangre venosa periférica - (5 ml.) a los 6 meses después de haber terminado el tratamiento, independientemente de que permanecieran con datos de actividad tumoral o hayan sido curadas. En esta muestra hubo exclusión de pacientes, debido a inasistencia de las enfermas, fallecimiento, o defectos técnicos en el procesamiento de la muestra (46 pacientes).

Inmediatamente después de sangradas las pacientes, las - muestras fueron conducidas al laboratorio clínico del Hospi-- tal de Oncología, donde se procesaron de inmediato para dosi-- ficación de DHL total (Método Woroblewski) e isoenzimas de la DHL (Técnica de Electroforesis en placa de celulosa).

Los resultados fueron sometidos a análisis estadístico, - mediante la aplicación de la Prueba de "t" de Student para -- muestras dependientes e independientes. La primera muestra - se comparó con el testigo desglosada en sus diferentes grupos, aplicando la prueba de "t" de Student para muestras indepen-- dientes. La segunda muestra se comparó con la primera, utili-- zándose "t" de Student para muestras ~~de~~ dependientes; y en los casos en los que existía duda de la significación estadísti-- ca, se comparó esta segunda muestra también con el testigo, - empleándose la prueba de "t" para muestras independientes.

RESULTADOS.

Grupo testigo: Las cifras de DHL tuvieron niveles máximos de 235 mu/ml. y mínimas de 103 mu/ml., con una media de 156.67. La desviación standard fué de 36.47 mu/ml., lo que nos indica claramente que se trató de un grupo de alta confiabilidad estadística, estableciendo los límites normales de esta enzima para nuestra población específica.

Las isoenzimas de la DHL tuvieron valores medios de: - - I-29.92, II-37.96, III-25.44, IV-3.67 y V-3.67. Estas cifras corresponden a los valores considerados en la literatura como normales, y las cifras de desviación standard concuerdan con una muestra de baja dispersión. (Gráfica No. 1).

Grupo 0: En la muestra previa al tratamiento, la dosificación de DHL total nos dió un valor medio de 154.1, no habiendo diferencia estadística respecto al grupo testigo. Por el contrario, en las isoenzimas, sí se observaron cambios estadísticamente significativos ($p < 0.05$) consistentes en elevación del componente IV y V (tipo músculo), a expensas de disminución de las fracciones I y II (tipo corazón). No se observó modificación en la actividad de la fracción III. Se-

perdieron 3 pacientes entre la primera y segunda muestra. -- (Gráfica No. 2). La segunda muestra (post-tratamiento) fué -- tomada cuando las pacientes se encontraban libres de activi-- dad tumoral, después de haber tenido una buena respuesta al -- tratamiento. Se demostró corrección del defecto isoenzimáti-- co, (principalmente de las II y IV que habían sido las más al-- teradas); al compararlo tanto frente a la primera muestra, co-- mo frente al testigo. Las isoenzimas I y V también se modifi-- caron en forma importante, sin llegar a ser estadísticamente-- significativas, pero demostrando tendencia hacia la normaliza-- ción. En la DHL total no se demostraron modificaciones. (Grá-- fica No. 3).

Grupo I: La DHL total no tuvo cambios en relación al tes-- tigo. En las isoenzimas, como alteración significativa, se -- encontró un incremento en la fracción II. (Gráfica No. 4). La -- segunda muestra fué muy interesante, ya que demostró que las-- enfermas después del tratamiento tuvieron descenso de la frac-- ción I ($p < 0.05$) y elevación de la V ($p < 0.05$). Los cambios -- en las fracciones restantes no fueron significativos. La co-- rrección de los defectos isoenzimáticos se hizo evidente tam-- bién al comparar la segunda muestra frente al grupo testigo.

La DHL total nuevamente no se modificó. (Gráfica No. 5).

Grupo II.- Este grupo fué el más numeroso (39 pacien-- tes) en la primera muestra, reduciéndose a 20 en la muestra --

post-tratamiento, de los cuales 5 permanecieron con actividad -- tumoral por falta de respuesta al tratamiento y 15 casos se en-- contraron clínicamente libres de actividad tumoral al momento de la segunda toma). En la primera muestra, la DHL total no tuvo - modificaciones en relación al testigo. En la isoenzima V, como- única anormalidad se encontró un aumento considerable en rela- - ción al testigo, (Gráfica No. 6).

En la segunda muestra, los resultados estadísticos de - los 15 casos con respuesta satisfactoria al tratamiento tuvie-- ron una gran elevación ($p < 0.03$) de la DHL global y de la -- isoenzima III. Curiosamente, los 5 casos que no curaron al - tratamiento, tuvieron cambios similares, aunque de menor cuan-- tía. (Gráfica No. 7).

Grupo III.- Se observó modificación en la DHL global - (importante elevación sin ser significativa estadísticamente).- En las isoenzimas no hubo cambios respecto al grupo testigo, - en la primera muestra. (Gráfica No. 8).

En la segunda muestra, de los 20 pacientes iniciales, s6-- lo se controlaron 7, de los cuales 3 presentaban actividad tumo-- ral al momento de la toma de muestra y 4 se consideraron contro-- lados. Los primeros mostraron una elevación severa ($p < 0.05$) - de la DHL global. Las isoenzimas no demostraron modificaciones- estadísticamente significativas. El grupo controlado de activi-- dad tumoral también mostró importante aumento de la DHL global-

(no significativo estadísticamente]. (Gráfica No. 9].

Grupo IV.- Presentó muy importantes modificaciones: Elevación de las isoenzimas IV y V a expensas de disminución de la I y II, todas significativas estadísticamente. La DHL global tuvo un aumento importante, pero no significativo (Gráfica No. - - 10). Durante la segunda muestra, todas las pacientes presentaban aún actividad tumoral detectable clínicamente. De las 18 pacientes inicialmente estudiadas, únicamente se logró una segunda muestra en 8. Sólo se encontró modificación en la DHL global, - que presentó elevación muy importante ($p = 0.03$). Las isoenzimas no mostraron modificación en relación a la primera muestra. (Gráfica No. 11).

GRAFICA No. 1

GRUPO TESTIGO

CASO No.	D H L mu/ml.	I s o e n z i m a s				DHL	
		1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	
45	207	21	33	32	6	8	
56	160	30	39	22	5	4	
62	113	28	33	25	7	7	
63	113	32	43	25	0	0	
64	114	31	35	22	6	6	
66	103	27	49	24	0	0	
67	113	26	44	30	0	0	
86	188	24	36	28	10	2	
89	122	35	37	22	3	3	
90	178	37	52	11	0	0	
91	132	40	43	17	0	0	
101	132	24	36	25	7	8	
102	235	36	37	22	3	2	
108	113	33	37	26	3	1	
110	141	40	23	30	3	4	
119	178	32	40	22	3	3	
120	216	29	36	26	4	5	
122	141	31	31	34	4	0	
123	188	24	34	28	7	7	
124	141	26	33	29	6	6	
125	178	33	40	22	3	2	
126	169	19	27	37	11	6	
127	132	26	45	26	1	2	
128	169	37	34	24	4	1	
129	178	27	39	27	3	4	
132	216	34	40	26	0	0	
53	160	26	49	25	0	0	
n = 27	x = 156.67	29.92	37.96	25.44	3.67	3.67	
	s = 36.47	5.44	6.42	5.01	3.04	2.72	
	EE = 7.02	1.04	1.23	0.96	0.58	0.52	

GRAFICA No. 2

ETAPA CLINICA O (IN SITU) ANTES DEL TRATAMIENTO

CASO No.	D H L mu/ml.	I s o e n z i m a s					D H L
		1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	
17	225	33	30	13	7	17	
26	94	21	39	35	5	0	
27	225	15	34	30	10	11	
28	188	18	29	19	6	28	
43	160	25	27	34	9	5	
57	188	25	38	23	8	6	
105	132	30	29	24	10	7	
117	103	29	36	27	5	3	
121	113	27	37	29	4	3	
138	113	36	40	24	0	0	
n = 10	x = 154.1	25.9	33.9	25.8	6.4	8.0	
	s = 47.40	6.22	4.53	6.37	2.94	8.26	
	EE= 15.0	1.97	1.43	2.01	0.92	92.61	
	t = 0.15	1.81	2.22	0.18	2.59	1.90	
	p > 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	

GRAFICA No. 3

CANCER CERVICOUTERINO EN ETAPA CLINICA O (IN SITU)
SEGUNDA MUESTRA (POSTCIRUGIA)

CASO No.	D H L mu/ml.	I s o e n z i m a s D H L				
		1 %	2 %	3 %	4 %	5 %
26 (NAT)	169	21	50	24	0	5
27 (NAT)	141	26	39	25	6	4
28 (NAT)	188	28	44	25	0	3
43 (NAT)	207	31	46	23	0	0
57 (NAT)	150	19	19	34	16	12
105 (NAT)	188	24	39	26	6	5
121 (NAT)	132	18	35	34	0	13

2a. muestra contra primera:

n = 7	$\bar{x}_d = 10.75$	0.86	5.57	0.428	3.42	2.57
	Sd = 56.48	8.22	12.98	8.67	5.53	11.72
	EEd = 21.31	3.10	4.89	3.27	2.08	4.43
	t = 0.50	0.28	1.13	0.13	1.64	0.58
	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05

2a. muestra contra testigo:

$\bar{X} = 167.85$	23.85	38.85	27.28	4	6
S = 159.94	10.87	18.81	12.09	6.21	5.35
EE = 60.58	4.11	7.12	4.58	2.35	2.02
t = 0.18	1.43	0.12	0.39	0.13	1.12
p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05

NAT = sin datos clínicos de actividad tumoral.

GRAFICA No. 5

ETAPA CLINICA I DESPUES DEL TRATAMIENTO

CASO No.	D H L mu/ml.	I s o e n z i m a s				DHL
		1 %	2 %	3 %	4 %	5 %
7 (NAT)	235	35	39	23	1	2
8 (NAT)	188	20	34	19	8	19
9 (NAT)	188	34	41	22	1	2
36 (NAT)	274					
44 (NAT)	255					
50 (NAT)	263	19	39	31	4	7
51 (NAT)	156	32	41	20	5	2
96 (NAT)	188	18	47	28	3	4
95 (NAT)	94	22	44	29	1	4

2a. muestra contra primera

	h = 9	h = 7				
$\bar{x}_d =$	27.11	7.83	3.71	3.42	1.71	5.28
sd =	84.59	7.94	7.71	5.37	3.22	6.57
EE =	28.19	3	2.92	2.03	1.22	2.49
t =	0.96	2.61	1.27	1.68	1.40	2.12
p >	0.05	p < 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p < 0.05

2a. muestra contra testigo

$\bar{X} =$	25.71	40.7	24.57	3.28	5.7
s =	12.96	17.13	11.08	2.95	6.57
EE =	4.9	6.48	4.19	1.11	2.48
t =	0.84	0.41	0.20	0.31	0.80
p >	0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05	p > 0.05

GRAFICA No. 7

ETAPA CLINICA II - DESPUES DEL TRATAMIENTO

CASO No.	D H L mu/ml	I s o e n z i m a s				DHL 5 %
		1 %	2 %	3 %	4 %	
1 (NAT)	228	30	49	15	6	1
5 (NAT)	160	48	40	12	0	0
23 (NAT)	160	37	46	17	0	0
32 (AT)	216	32	42	22	3	1
37 (NAT)	188	23	37	22	4	14
59 (NAT)	204	29	38	25	4	4
61 (AT)	150	29	36	25	7	3
69 (NAT)	122	31	58	11	0	0
74 (NAT)	197	25	40	25	6	4
72 (NAT)	216	43	37	20	0	0
88 (AT)	150	35	42	23	0	0
139 (NAT)	188	35	33	29	1	2
100 (NAT)	169	27	37	20	7	11
104 (AT)	225	31	39	25	1	4
106 (AT)	216	21	31	28	11	9
109 (NAT)	150	20	31	17	30	2
222 (NAT)	222					
113 (NAT)	254	27	41	27	2	3
134 (NAT)	94	30	34	22	14	0
137 (NAT)	122					

5 pacientes con actividad tumoral: (AT)

$\bar{X}_d = 52.6$	3.4	1.6	5.8	0.4	3.6
$S_d = 69.42$	12.02	8.99	7.78	6.35	9.97
$EE = 31.04$	5.39	4.03	3.48	2.84	4.47
$t = 1.70$	0.63	0.39	1.66	0.14	0.80
$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$

15 pacientes sin actividad tumoral: (NAT)

$\bar{X}_d = 42.26$	0.769	4	5.38	1.307	0.46
$S_d = 54.38$	11.87	10.67	7.72	12.55	7.49
$EE = 14.05$	3.297	2.96	1.49	3.48	2.08
$t = 3.0$	0.23	1.35	3.61	0.37	0.22
$p < 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p < 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$

GRAFICA No. 9

ETAPA CLINICA III DESPUES DEL TRATAMIENTO.

CASO No.	D H L mu/ml.	I s o e n z i m a s				DHL 5 %
		1 %	2 %	3 %	4 %	
3 (NAT)	178	31	40	23	2	4
13 (AT)	292	19	52	25	4	0
76 (NAT)	207					
135 (NAT)	150	33	57	10	0	0
136 (AT)	169	25	38	27	3	7
70 (NAT)	169	29	36	30	4	1
114 (AT)	188	28	42	27	2	1
98 (NAT)	291	27	43	22	5	3
3 pacientes con actividad tumoral clinica (AT)						
$\bar{X}_d = 87.66$		2.66	8.33	1	3.66	1
$S_d = 70.53$		4.46	15.06	5.61	7	8.03
$EE = 40.72$		2.5	8.7	3.2	4.04	4.64
$t = 2.15$		1.06	0.95	0.31	0.90	0.21
$p < 0.05$		$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$
4 pacientes sin actividad tumoral clinica (NAT)						
$\bar{X}_d = 63$		3	6.5	3	1	0.5
$S_d = 81.34$		8.62	9.50	8.22	1.91	2.53
$EE = 40.67$		4.31	4.75	4.11	0.95	1.26
$t = 1.55$		0.69	1.38	0.72	1.05	0.39
$p > 0.05$		$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$	$p > 0.05$

GRAFICA No. 10

CANCER CERVICOUTERINO EN ETAPA CLINICA IV

PRIMERA MUESTRA (PRETRATAMIENTO)

CASO No.	D H L mu/ml.	I s o e n z i m a s				D H L 5 %
		1 %	2 %	3 %	4 %	
14	94	19	33	32	14	2
15	291	24	43	26	6	1
16	225	22	28	25	13	2
18	178	24	30	20	14	12
21	160	27	32	29	5	7
22	122	15	28	26	15	16
24	132	25	35	23	6	11
30	103	20	30	28	11	11
39	160	19	26	23	6	26
47	103	14	25	22	5	34
52	188	30	47	23	0	0
77	197	35	36	25	3	1
81	160	7	19	33	17	24
82	292	26	33	30	4	17
85	237	19	27	24	14	16
115	160	24	32	21	12	11
116	169	21	36	21	9	13
118	225	27	44	23	4	2

n = 18	x = 177.56	22.11	32.44	25.22	8.78	11.44
	s = 57.28	6.19	6.87	3.71	4.88	9.10
	EE = 13.50	1.46	1.619	.874	1.15	2.14
	t = 1.37	4.36	2.14	0.17	3.99	3.83
	p = > 0.05	< 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.05

GRAFICA No. 11

CANCER CERVICOUTERINO EN ETAPA CLINICA IV
SEGUNDA MUESTRA (POSTRADIOTERAPIA)

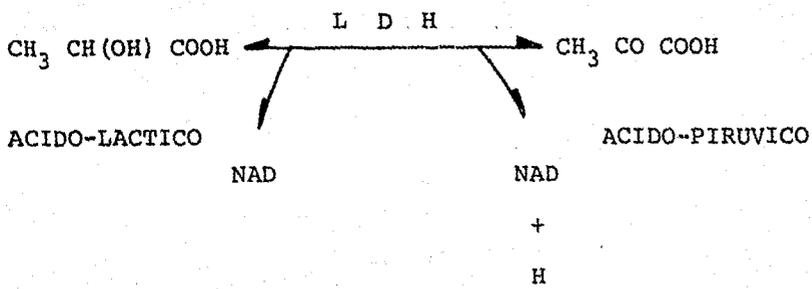
CASO No.	DHL mu/ml.	I s o e n z i m a s				D H L 5 %
		1 %	2 %	3 %	4 %	
15	300	20	40	25	10	5
21	172	25	35	25	5	10
30	150	23	32	28	8	9
47	207	20	28	20	0	32
52	200	25	50	25	0	0
81	188	5	22	33	15	25
115	190	25	30	25	11	9
118	196	24	42	21	6	7
n - 8	xd = 59.12	0.75	0.87	0.37	0.62	0.87
	sd = 34.94	3.78	2.71	2.50	2.83	2.87
	EE = 12.39	1.34	0.96	0.88	1	1.01
	t = 4.77	0.55	0.91	0.42	0.62	0.86
	p = < 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

DISCUSION

En la evolución de una célula normal a célula neoplásica, ocurren múltiples cambios morfológicos y funcionales. En esta transición hay cambios en los constituyentes enzimáticos de la célula, que se han ido haciendo una línea de investigación de gran interés, debido a que muchas medidas diagnósticas y terapéuticas se basan en ellas.

Desde hace más de 50 años, Cori (2) observó que hay un aumento en el ácido láctico de la sangre que ha pasado por un cáncer, y Warburg (1) demostró que el tejido maligno tiene una gran actividad glicolítica debido a que el consumo de oxígeno de estas células es mayor que el de las células normales. Esto señaló una gran diferencia entre los tejidos benignos y malignos. La DHL es una enzima "mayor" en la glicólisis y cataliza en forma reversible la conversión de piruvato a ácido láctico. (Fig. No. 2). Con el incremento en la actividad glicolítica, uno esperaría un incremento concomitante en la actividad de la enzima DHL que se reflejaría en algunos líquidos tisulares. Meister (3) estudiando tejidos normales y tumorales en el ratón y en la rata, concluyó que los tumores tienen una apreciable actividad de DHL. En estudios de tejido humano maligno y no maligno, varios investigadores (4) demostraron que aparecen diferencias específicas en las isoenzi-

FIGURA No. 2

CONVERSION DE PIRUVATO A LACTATO Y VICEVERSA.

mas de la DHL. Hill y Levi (5) reportaron una elevación de DHL en 49 de 51 pacientes con enfermedades neoplásicas, observando una cierta relación entre la extensión del cáncer y la elevación de esta enzima en suero. Aunque refiere este mismo autor, resultados contradictorios en estudios posteriores (6), en que la DHL lábil, también se halló incrementada en el suero de enfermos cuyo carcinoma experimentó regresión. Bierman (7) encontró niveles elevados de DHL en suero en 121 de 132 pacientes con carcinomas. En 1956 Zimmerman (8) notó elevación de esta enzima en la mitad de 30 pacientes con enfermedad maligna. Varios investigadores (9, 10, 11, 12) reportaron incremento de la DHL en pacientes con linfoma, leucemia granulocítica, carcinoma de páncreas y vesícula, metástasis de carcinoma de la mama y enfermedad metastásica del hígado. Denis (13), estudiando esta enzima en pacientes con cáncer prostático, encontró una elevación consistente en sus isoenzimas IV y V, mientras que los pacientes en remisión tenían sólo trazas de las mismas. Kiser y Riggins (14, 15) estudiaron la DHL en la orina de pacientes con enfermedades malignas y no malignas del tracto urinario, demostrando un incremento de la DHL, pero sin lograr confirmar ninguna relación diagnóstica específica. Asada y Galambos (16) reportaron 5 casos de carcinoma del ovario con metástasis en los que había elevación de la DHL tanto en suero como en líquido pleural. Goldman (17) reportó actividad anormalmente aumentada de la enzima en tejido maligno al compararla con tejido normal. Nosoo-

tros en nuestro estudio de cáncer cérvicouterino no encontramos elevación de la DHL total en ninguna de las etapas clínicas de las pacientes vírgenes de tratamiento.

Hoch (18), desde 1962 sostiene que hay una relación directa entre la extensión y agresividad del cáncer y el aumento en la actividad de la DHL en suero, así como el descenso de los niveles después del tratamiento quirúrgico, radiológico o quimioterápico. Nuestros estudios en cáncer cérvicouterino no concuerdan con sus resultados, ya que la DHL total no se modificó en la muestra de pacientes con enfermedad maligna, e incluso, presentaron un franco ascenso post-radioterapia en las etapas II, III y IV, independientemente de la respuesta al tratamiento.

Los mecanismos celulares de degeneración maligna son aún sujeto de opiniones muy discrepantes. Además de las teorías mutagénicas, virales, inmunológicas, etc., existe el concepto planteado por Warburg (19) (23) y sostenido por Le Page (24), Sibley y Lehninger (25), Malmgreen y Flanagan (26), Sapet (27), y Young (28) de acuerdo con el cual el fenómeno del crecimiento maligno y la proliferación es debida a un desbalance metabólico generado por disminución en la capacidad respiratoria de la célula, y acompañado de un incremento compensatorio en la glicólisis, por lo tanto, la hipoxia sería la causa primaria del cáncer. Siguiendo este camino de investigación, Haulica (29), del Instituto de Investigaciones Médicas de Ru-

mania, en 1973, plantea un modelo experimental de hipoxia tisular con cianuro de potasio en ratas y conejos tratando de semejar la hipoxia tisular del cáncer, encontrando un incremento importante de la actividad glicolítica en los eritrocitos de dichos animales. Braunstein (30) demostró experimentalmente la existencia de una deficiencia en el sistema de la succinoxidasa tanto en tumores experimentales como espontáneos, dando apoyo a las tesis de Warburg.

Destacan en la literatura las publicaciones de Hoch y colaboradores, realizadas en la Universidad de George Washington, que han seguido desde hace más de 15 años el camino de investigar la actividad enzimática del cáncer. En 1961 realizó un estudio experimental (32), tratando de responder a la incógnita planteada por Bierman en 1957 (31): "no está claro hasta el presente el que la actividad de la DHL sea un producto directo del tejido neoplásico debido a un incremento de la glicólisis, o tal vez una complicación secundaria de la enfermedad, v.g. hemólisis, necrosis tisular, regeneración eritrocítica o daño hepatocelular". El autor sostenía como hipótesis el que el incremento de la DHL era correlacionable principalmente con la masa del tumor, mientras que la actividad de otras enzimas, como por ejemplo la transaminasa oxaloacética, podía relacionarse con la necrosis tisular causada por la invasión tumoral a órganos con altos niveles de esta enzima co-

mo son el hígado y el corazón. Pensó que ayudaría a aclarar este problema el comparar los efectos de la radioterapia y -- del tratamiento quirúrgico sobre la DHL en pacientes con cáncer, ya que indicarían que si las enzimas son derivadas de -- las células malignas, al destruir a éstas sobre un periodo -- prolongado de tiempo con radioterapia, se liberarían estos -- constituyentes celulares hacia la circulación; mientras que -- en la cirugía serían retirados por completo del cuerpo el tumor y sus metabolitos celulares. Estudió 38 pacientes con -- cáncer (pulmón, esófago, tumores del sistema hematopoyético) -- tratados con radioterapia, y 11 (neoplasias de tubo digesti-- vo) enfermos operados. Estableció las siguientes conclusio-- nes: a) no es posible establecer el origen del incremento -- tan sistemático de la DHL en los tumores malignos. b) La posibilidad de que el incremento de la DHL sea causado por liberación a partir de las células cancerosas, no puede ser sostenida en vista de la falta de una disminución significativa en las enzimas séricas poco después de la resección de todo o -- por lo menos la mayor parte del tejido canceroso. Si se apreció un descenso en los niveles séricos de DHL algunos meses -- después de la cirugía (de 4 a 6 meses). c) Posterior a la radioterapia hubo un descenso importante y sistemático en los -- niveles séricos de DHL, que consideró podrían ser atribuidos a 3 posibles factores: 1.- Efecto sobre el tumor. 2.- Efectos sistémicos. 3.- Efectos sobre las enzimas mismas. Llamó la atención el hecho de que no hubo un incremento inicial en-

las enzimas, que era de esperarse, debido a un incremento en la liberación enzimática de las células dañadas, y también el hecho de que había descenso de la actividad enzimática aún en los enfermos en quienes no había mejoría clínica. Así pues, la disminución en los niveles séricos después de radioterapia es debida a inhibición directa de los sistemas enzimáticos o a cambios metabólicos de todo el cuerpo, y no solamente por la destrucción de las células tumorales. Estos resultados son congruentes con los estudios de laboratorio realizados por Barron (33) que demostró que enzimas del grupo sulfidrilo diluidas en solución acuosa eran inhibidas in vitro por pequeñas dosis de radioterapia a través de la oxidación de sus grupos sulfidrilo de sus proteínas. Más recientemente, Kuhn demostró que la radioterapia con protones lentos inhibía la DHL purificada del músculo de la rata. En nuestro trabajo, los niveles séricos de DHL en las pacientes tratadas con radioterapia, presentaron elevación importante, proporcionalmente al grado de invasión tumoral. Este cambio no tuvo relación con la respuesta al tratamiento, lo que nos hace pensar que están más bien en relación a cambios tisulares post-radioterapia, que a actividad tumoral.

Numerosos autores anteriores a Hoch, tales como Brindley (35), Hill y Levi (36), (37) y (38); Hsieh y Blumenthal (39); Starkweather y Schoch (40); Sylven y Bois (41); Vesell y Bearn (42); West y Zimmerman (43); White (44); (45); Wroblews

ki y La Due (46), habían realizado estudios encontrando elevación de la DHL en el suero de pacientes afectados con diferentes enfermedades neoplásicas.

Bierman, Hill, Reinhardt y Emory (47), en un estudio realizado en 1957 encontraron que en los casos estudiados de leucemia, el grado de elevación de la DHL sérica se correlacionaba estrechamente con el estadio clínico del paciente.

En los estudios de Goldman (17), se observó que la actividad de la DHL está generalmente elevada en el tejido tumoral en relación al mismo tejido normal, diferencias que fueron estadísticamente significativas sólo en casos de tiroides, riñón, intestino grueso y cáncer de útero. Sin embargo, con técnicas más depuradas de dosificación de isoenzimas, encontraron una variación consistente en el patrón de las isoenzimas de la DHL, en especial en el componente designado "tipo - músculo", el cual fué significativamente elevado en todos los grupos de tumores malignos exceptuando tumores de ovario y próstata.

En estudios posteriores, Cornelia Hoch (48), analiza la actividad de la DHL y sus isoenzimas, utilizando técnicas de homogeneizado de tejido y posteriormente separando las isoenzimas de DHL por electroforesis en papel. Observó que la edad, raza y estado nutricional del paciente no tuvo ninguna influencia en la modificación de los patrones de la DHL. Es-

tudiando tumores del tracto gastrointestinal observó ausencia de elevación en la concentración de DHL en los órganos en los cuales se alojó un cáncer, además de marcada sobreposición en las concentraciones de DHL en tumores primarios y mucosa no cancerosa en diferentes personas, concluyendo que es sumamente difícil esperar un incremento de los niveles séricos de DHL como un signo temprano de cáncer. Hoch, sin embargo, encontró incremento en los niveles séricos de DHL no solamente en los pacientes con cáncer avanzado, sino también en pacientes con tumores en estadios tempranos, lo cual explica debido a cambios sufridos en la membrana celular de los tumores malignos, los cuales liberan DHL a la circulación aún antes de haber sido demostrada la acumulación de la enzima dentro del tejido tumoral. Este mismo hecho, había sido ya analizado con anterioridad por otros autores como Holmberg (49) y Sylvéén (41), quienes demuestran la liberación de grandes cantidades de enzimas citoplásmicas al interior de líquidos intersticiales provenientes de tumores sólidos trasplantados.

En nuestro estudio, por el contrario encontramos que la DHL total se incrementó en el cáncer cérvicouterino sólo un poco (sin ser significativa estadísticamente) en las etapas III y IV antes del tratamiento y nada en las etapas previas.

Hoch además plantea que los tumores metastásicos presentan las mismas características morfológicas y enzimáticas que

el tumor primario, variando únicamente la concentración (en el caso de la DHL) en los diferentes órganos afectados, lo cual se podría deber a la predisposición de cada órgano para aceptar metástasis en relación al metabolismo de sus células. El presente estudio y los hallazgos que Hoch demuestra, sugieren que los cambios de la DHL en órganos de pacientes con tumores malignos diseminados, son una expresión de los cambios metabólicos fundamentales en el organismo en su conjunto.

En 1976, Hoch (50) comparó las concentraciones de DHL existentes en médula ósea y en sangre periférica en pacientes con carcinoma de colon, leucemia linfoide, cáncer prostático, leucemia mieloide y mieloma, encontrando que en individuos normales, la actividad en médula ósea es 4 veces mayor que en sangre periférica; sin embargo, en los portadores de tumor aparecía en forma sistemática un incremento muy significativo de los niveles enzimáticos para algunos tumores (carcinoma de colon y leucemia linfoide), y poco importante o nulo en otros. Existe pues, una diferencia en el comportamiento enzimático de los distintos tumores, por lo que se justifica el estudio específico del ca. cu.

Otro laboratorio empeñado en el estudio de estos problemas, es el de la Escuela de Medicina de la Universidad de Illinois y de la Escuela de Medicina de Chicago; en él, West, Hyman y Zimmerman (51) han analizado la actividad enzimática-

de 173 pacientes con neoplasias, encontrando que 76 de ellos tenían elevación de DHL. Lograron establecer grupos en los que se encontraba incremento (carcinoma del pulmón, estómago, colon y páncreas) y en los que éste era mínimo o inexistente (faringe, esófago, próstata y vejiga). En los casos de carcinomatosis sin primario identificable, la DHL estuvo invariablemente elevada. Las cifras más elevadas, fueron encontradas en los casos en que las metástasis eran de mayor tamaño, o bien, cuando lesionaban al hígado. Sin embargo, se hizo indiscutible el hecho de que pacientes sin lesión hepática y sin metástasis, también podían tener elevaciones importantes de la DHL. En un paciente con un gran tumor del estómago, la resección de la lesión llevó al regreso a lo normal en el patrón de la actividad enzimática sérica.

Podemos concluir que nuestras pacientes portadores de cáncer cérvicouterino se incorporan al grupo de pacientes con cáncer en quienes no se incrementan las cifras totales de DHL, independientemente de la etapa clínica en que se encuentren.

Es de interés el hecho de que en estudios previos en animales de experimentación, la elevación de los niveles séricos de DHL y otras enzimas glicolíticas parecen reflejar la masa en volumen de tejido tumoral, más que la presencia o ausencia de metástasis hepáticas. Los datos obtenidos por Weis son correlacionables con estos hallazgos: "Debe haber suficiente masa tumoral (total) en el cuerpo para producir elevaciones en-

zimáticas". Desde este punto de vista, la elevación de la DHL en pacientes con enfermedad neoplásica, podría ser altamente sugestiva de diseminación a partir del tumor primario. Este mismo autor estudió en 1961 el comportamiento de varias enzimas en 126 pacientes con carcinoma broncogénico, para tratar de aclarar si estas modificaciones revelaban los sitios de metástasis o solamente la masa tumoral o bien ambos. Llegó a la conclusión final de que el incremento en los niveles de enzimas glicolíticas estaban en relación directa a la masa tumoral, pero podían también ser un indicador del sitio de las metástasis. También en 1961 (54), el mismo autor, estudió enfermos con neoplasias del tracto gastrointestinal, encontrando nuevamente hiperactividad enzimática. Estableció entonces una hipótesis sobre el origen de estas elevaciones enzimáticas a través de 3 caminos posibles: 1.- Liberación de las enzimas del tejido neoplásico hacia la sangre. 2.- Liberación de enzimas del tejido normal invadido por el tumor. 3.- El posible efecto del tumor en el tejido distante conduciéndolo a la pérdida de sus enzimas hacia la sangre. Respecto a la primera hipótesis, ésta se considera fuera de toda duda pues el incremento en la glicólisis es uno de los elementos más característicos del disturbio metabólico del tejido tumoral. La segunda hipótesis la sostienen por el hecho de que las metástasis a órganos con diferentes actividades enzimáticas intrínsecas (vg. el hígado), producen una mayor elevación de las enzimas séricas a la vez que no se encuentran - -

grandes diferencias en muestras de tejido de las células malignas. La tercera posibilidad que es la liberación de las enzimas por tejido remoto al tumor (v.g. músculo), sigue siendo puramente teórica.

Dos años después, West (55) profundiza sus estudios revisando a 83 pacientes con tumores del tracto urinario. Hace un análisis de la actividad de 11 enzimas en estos pacientes, pero nos referiremos únicamente a sus hallazgos en torno a la DHL. Los valores para las enzimas glicolíticas estuvieron siempre aumentados, incluso en pacientes sin metástasis distantes, aunque los valores más altos sí correspondieron a los casos con metástasis extensas, particularmente cuando éstas involucraban al hígado.

No realizamos correlación con lesiones metastásicas, debido a que la evolución del cáncer cérvicouterino es relativamente lenta, y nuestro tiempo de control hasta el momento es corto, además de la rareza con que se presentan metástasis distantes de este tumor, y la dificultad para su diagnóstico.

Piper (56) revisó la actividad de las enzimas glicolíticas en mucosa pilórica y fúndica normales y las compara con los resultados en cáncer gástrico. Demostró una mayor actividad de la DHL en los tejidos en donde existía cáncer (7 de 8 casos). En los carcinomas se encontró una moderada hiperactividad de DHL, mientras que en los sarcomas se demostró una gran diferencia en comparación con la mucosa normal y la mucosa

El mismo Piper junto con Macoun, Broderick, Fenton y - - Builder (57), (58), ya en años anteriores habían realizado estudios de actividad enzimática en jugo gástrico como parámetros para diagnosticar carcinoma gástrico obteniendo resultados semejantes a los mencionados.

Levitan (59), Schenker (60) y Smyrniotis (61), anteriores a Piper, habían realizado estudios semejantes acerca de la actividad de la DHL en jugo gástrico como parámetro diagnóstico de cáncer en esta localización, encontrando resultados semejantes al mencionado autor.

Awais en 1973 (62) en Cleveland, trató de establecer el valor diagnóstico de la DHL sérica en los carcinomas del ovario. Haciendo un estudio comparativo entre los niveles de DHL antes y después del tratamiento, encontró que ésta se incrementa en forma sistemática en las pacientes portadoras de esta neoplasia y disminuye en todas las formas de tratamiento establecido, especialmente en la radioterapia y en la quimioterapia y un poco menos posterior a la cirugía. En los casos con recurrencia tumoral había una nueva elevación de la DHL.

En la India, Talageri (100) en 1975, trató de correlacionar la actividad total de la DHL con el incremento de una o más de las isoenzimas de la DHL en células humanas normales y malignas en un montaje experimental in vitro usando electroforesis en gel de acrilamida. Sus conclusiones fueron que las cepas de células malignas estuvieron caracterizadas por patrones muy variados de isoenzimas de la DHL por lo que no es po-

sible hacer generalizaciones muy estrictas; sin embargo, en general puede decirse que la enfermedad maligna está asociada a un incremento global de las isoenzimas de la DHL. La cepa HeLa demostró un incremento consistente en aproximadamente 254-322% de las bandas de movimiento lento (IV y V). En el condrosarcoma y en la mayoría de los osteosarcomas estudiados, así como en sus contrapartes normales, solamente fueron vistas 3 bandas: 1, 2 y 3. Los resultados que nosotros obtuvimos fueron semejantes en las pacientes portadoras de cáncer cervicouterino etapa clínica 0 y IV, ya que mostraron una significativa elevación de las isoenzimas IV y V, a expensas de disminución de la I y II. Sin embargo, en el resto de las etapas clínicas no hubo modificaciones constantes del patrón-isoenzimático.

Existen en la literatura muy pocos reportes de información respecto a la actividad enzimática del carcinoma cervicouterino. Goldberg y colaboradores (63), estudiaron la distribución de ribonucleasa en líquido obtenido en duchas vaginales con el objeto de valorar su utilidad en el diagnóstico de carcinoma cervicouterino, basándose en experimentos previos de dosificación de beta glucuronidasa (64 a la 70) y fosfogluconato deshidrogenasa (71 a la 83); encontrando que cuando la ribonucleasa era medida en material celular homogeneizado, ésta se encontraba elevada en más del 400% en el grupo con cáncer. Con pocas excepciones, no se detectó ninguna actividad en el sobrenadante derivado de grupos no malignos, mientras que sí hubo actividad elevada en todos los sobrenadantes

derivados del grupo con cáncer. La fracción plasmática demostró sobreposición entre los dos grupos a pesar de que el grupo con cáncer tenía un valor medio mucho más alto.

En 1973, en el laboratorio de bioquímica de la Universidad de Praga, Checoslovaquia, Laurova y colaboradores (84) analizaron la actividad de la DHL y sus 5 fracciones isoenzimáticas en 17 pacientes con carcinoma endometrial, 16 pacientes con endometrio secretor y proliferación disfuncional; así como el suero sanguíneo y el tejido cervical homogeneizado de 12 pacientes con carcinoma cervicouterino y 12 pacientes con cambios histomorfológicos benignos del cérvix uterino. Sus resultados demostraron que el valor medio de la actividad sérica de DHL en pacientes con carcinoma fue de 172.1 unidades, que es mayor al valor correspondiente encontrado en pacientes con patología endometrial benigna (95.7 unidades). Y por otro lado, el valor medio de la actividad de la DHL sérica obtenido en pacientes con carcinoma del cérvix fue de 118 unidades, que también fue mayor que el valor encontrado en pacientes con patología cervical benigna (81.3 unidades). En este estudio, el autor no logró demostrar un incremento significativo estadísticamente, de la actividad total de la DHL sérica. Sólo en un paciente con carcinoma cervicouterino, esta actividad fue mayor que el valor normal aceptado para poblaciones sanas (190 u.). Al comparar sus resultados con un grupo control, en el tejido carcinomatoso sí se encontraron incrementos hasta de un 1% en la actividad total de la DHL. Al revisar las modificaciones en las isoenzimas de la DHL en pacien-

tes con carcinoma endometrial, encontraron un incremento en la fracción V en 6 pacientes con carcinoma y en un paciente control. Los pacientes con carcinoma del cérvix tuvieron incremento en la actividad del factor V en 5 pacientes. En el homogeneizado de tejidos hubo pues, un incremento en la fracción V tanto en el carcinoma endometrial como en el cervical, teniendo ambos significado estadístico. Les llamó la atención el haber encontrado, en contra de hallazgos de estudios previos (85), una disminución muy significativa de la fracción III de la DHL. Los autores sostienen que el corto número de muestras les impide establecer conclusiones definitivas.

Nuestros hallazgos fueron semejantes en el sentido de -- que no encontramos modificaciones de la DHL total y también -- en cuanto a la elevación de la isoenzima V en casi todas las etapas clínicas, aunque nuestro número de casos si nos permite establecer conclusiones estadísticas.

Respecto a la isoenzima III, nosotros encontramos un moderado descenso en las etapas clínicas I y II, sin llegar a -- tener significación estadística.

En 1976, Morton y Schwartz (86) presentan un estudio en el cual señalan la utilidad del análisis isoenzimático de tejidos cervicales y del líquido de lavados vaginales para el diagnóstico de cáncer cérvicouterino. Analizan numerosas enzimas entre las cuales destacan las enzimas glicolíticas las cuales se encontraron elevadas en el suero de grandes porcen-

tajes de pacientes con cáncer metastásico al hígado. Como ya se había indicado en estudios previos del mismo autor (87), - la fosfohexosa isomerasa se encuentra elevada en un gran porcentaje de pacientes (84%), la aldolasa en 75%, la DHL en - - 69%, la deshidrogenasa isocítrica en 57%, la glutathionin re-- ductasa en 47% y la alanina aminotransferasa en 33%. El me-- jor uso de estas enzimas se puede aplicar a la evolución del- curso de la enfermedad y de preferencia empleando la dosifica- ción de varias de ellas ya que en muchos casos una sola enzi- ma puede no responder. Pero de mayor interés son los estu- - dios de sus isoenzimas como diagnóstico de procesos neoplási- cos. Se ha observado un frecuente predominio de la isoenzima V en estudios realizados en cáncer de mama, útero, próstata, - cerebro, pulmón, estómago y riñón, en el suero de algunos pa- cientes; pero los hallazgos más importantes sobre esta obser- vación se han realizado en homogeneizado de tejido. El nivel de la isoenzima V de la DHL se observó 6 veces mayor en homo- geneizado de tejido canceroso de mama en relación al mismo es- tudio en tejido de fibroadenoma de mama.

Resultados exactamente iguales a los arriba mencionados- fueron obtenidos en ese mismo año de 1976 por Hilf (99) estu- diando 130 casos de cáncer de mama en homogeneizado de tejido, observando que por electroforesis con disco de gel de acrilamida se obtuvo una elevación de 3 a 6 veces de la isoenzima V de la DHL en relación al tejido mamario normal.

Regresando a los estudios de Morton, realizó los mismos ensayos en cáncer cérvicouterino obteniendo un incremento de 42% de la isoenzima V de la DHL en comparación a un 4% en tejidos normales de la misma localización. La alteración más significativa en nuestro trabajo fué también el incremento de las isoenzimas V en todas las etapas clínicas (excepto la I). Con este trabajo se incorpora el cáncer cérvicouterino al grupo de cánceres señaladas previamente como productores constantes de este cambio.

Otra variante sobre ensayos semejantes la constituyen los estudios de Prasad y colaboradores quienes realizaron en 1974 un estudio sin éxito tratando de dosificar DHL e isoenzimas en canal cervical y endocervical para diagnosticar displasia del cérvix por medio de toma de muestra con espátula (frotis).

Nodskov en 1975 (92) revisó la actividad de las enzimas del ciclo glicolítico en biopsias de cérvix uterino normal, precanceroso y maligno. En las lesiones precancerosas (displasia y ca. in situ sin signos de carcinoma invasor), solamente la piruvato quinasa demostró moderado pero significativo incremento en su actividad. Un incremento en la actividad enzimática de las biopsias histológicamente clasificadas como carcinoma in situ, se encontró que señalaba la presencia de carcinoma invasor en otras partes del cérvix. En el carcino-

ma invasor del cérvix todas las enzimas estudiadas demostraron un incremento de 2 a 4 veces ($p < 0.01$) al compararse con el cérvix normal. No lograron revelar diferencias significativas entre la actividad enzimática en biopsias de pacientes con estadios I, II y III. Así pues, no fué posible establecer correlación entre la actividad enzimática y el pronóstico. Nuestros resultados no concordaron con este hallazgo ya que las etapas 0 ("in situ") de nuestros casos, demostraron en forma sistemática elevación de las fracciones anaeróbicas, a pesar de no haberse demostrado invasividad histológica.

Las isoenzimas de la DHL han sido estudiadas por Ishihara y Latner (93) y (94) quienes encontraron un patrón similar en las lesiones precancerosas y en las cancerosas al estudiarlas por electroforesis en gel de almidón; pero al realizar el mismo estudio en discos de acrilamida, sí se encontró un incremento de la DHL en su fracción V sin modificarse la fracción IV.

Goldberg en 1967 (89) estudió la actividad y distribución de las nucleasas, adenosin-deaminasa, DHL y deshidrogenasas isocítrica y fosfogluconato en biopsias de tejido obteniéndolas de 16 pacientes con carcinoma cérvicouterino antes y después del tratamiento con radioterapia y fraccionado en preparaciones mitocondriales y microsomales y del sobrenadante. Se encontró un incremento significativo en la actividad específica de la ribonucleasa ácida y alcalina en las 3 fracciones citoplásmicas después del tratamiento con radium, y --

una caída muy significativa en la actividad específica de la DHL que sucedió en la fracción del sobrenadante. La actividad específica de otras enzimas no se afectó o se redujo muy moderadamente.

Errera (90) cita un ejemplo en donde la DHL cae después de la radioterapia en el tejido fetal de la rata y disminuye la actividad sérica de la DHL después del mismo tratamiento en humanos con cáncer (91).

Nuestros hallazgos en las dosificaciones de las isoenzimas de la DHL posterior a tratamiento quirúrgico en los casos en etapa 0, y radioterápico en las invasores (I a IV) son interesantes: Se alteró todo el patrón isoenzimático, que había demostrado desviación anaeróbica en la muestra previa tratamiento, regresando a la normalidad en los casos en etapa clínica 0, en los que hubo respuesta adecuada (curación) al tratamiento; y no hubo corrección bioquímica, manteniéndose el predominio de las bandas catódicas en el grupo de pacientes en etapa IV que mantuvieron actividad tumoral aún después del tratamiento. Los cambios respectivos de la isoenzima I tuvieron una obvia relación inversa con los cambios de la fracción V. El resto de las etapas clínicas mostraron alteraciones no constantes, ni específicos, pero significativas incluso al análisis estadístico: Etapa I: Después de la radioterapia demostró disminución de la isoenzima I a expensas de aumento de

la V. Etapa II: Después de la radioterapia hubo disminución ($p < 0.02$) de la fracción III. Etapa III: Sólo mostró importante elevación de la fracción II.

Hilf (95) encontró que los tumores mamarios transplantables experimentalmente, que no respondían al tratamiento hormonal, tenían una actividad considerablemente mayor de varias de las enzimas de la glicólisis anaeróbica, en comparación con los tumores que eran hormodependientes y por lo tanto, respondían a la hormonoterapia. Llama la atención, que los tumores con el perfil de enzimas glicolíticas más alto, respondían bastante bien (inhibición del crecimiento), cuando el huésped era tratado con una variedad de agentes citotóxicos.- Savlov (96) notó que la actividad de las enzimas glicolíticas en biopsias de mama era alta en muchos de los pacientes que tuvieron una respuesta adecuada al tratamiento con agentes quimioterápicos citotóxicos. En 1976, el mismo grupo de investigadores (97), revisaron la actividad de numerosas enzimas glicolíticas en cáncer mamario, para tratar de establecer su valor predictivo sobre la respuesta al tratamiento. Sus resultados sugieren, que los casos de cáncer de mama que demostraron respuesta clínica a la quimioterapia citotóxica, poseían un perfil enzimático glicolítico más alto, que aquellos pacientes que no respondieron a regímenes terapéuticos seme-

jantes. La elevación de las enzimas involucradas en la glicólisis anaeróbicas, pueden reflejar el índice de crecimiento tumoral, como ha sido demostrado experimentalmente en hepatomas de la rata. (98). Si ocurriera una situación similar en el cáncer de mama, uno podría predecir, que las neoplasias -- con actividad enzimática glicolítica mayor, son aquellas que tienen los mayores índices de crecimiento. Puesto que los -- agentes citotóxicos específicos de los ciclos celulares deben demostrar una mayor eficacia contra las lesiones que contienen una mayor proporción de células en división, se puede concluir, que los tumores que más fácilmente responden a los quimioterápicos, serían, a su vez, los que tuvieran una mayor actividad enzimática. Puede entonces decirse, que puede establecerse un criterio bioquímico que indique la posible respuesta a los agentes hormonales y citotóxicos en cáncer mamario (97).

Nos queda pendiente de realizar el análisis de los cambios bioquímicos post-quimioterapia en el suero de pacientes con cáncer cérvicouterino, debido a que este procedimiento terapéutico es de reciente aplicación en nuestro medio.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA 49

CONCLUSIONES

- 1.- La DHL sérica total se eleva importantemente en las etapas clínicas III y IV del carcinoma cervicouterino.
- 2.- Las isoenzimas "tipo músculo" de la DHL sérica se incrementan en forma estadísticamente significativa en las etapas clínicas 0 o "in situ" y IV, especialmente en esta última. En forma inversamente proporcional, las fracciones "tipo corazón" decrecen en estas mismas muestras.
- 3.- La fracción III de la DHL sérica disminuye moderadamente en las etapas clínicas I, II y III de las enfermas con carcinoma cervicouterino.
- 4.- La fracción V de la DHL sérica aumenta moderadamente en las etapas clínicas II y III de las enfermas con carcinoma cervicouterino.
- 5.- El tratamiento quirúrgico (Etapa 0) y radioterapéutico con Co 60 (Etapas I a IV), modificó las alteraciones isoenzimáticas pre-tratamiento en la siguiente forma:
 - a) Las pacientes en etapa 0, quienes tuvieron excelente respuesta clínica al tratamiento, tuvieron regreso a lo normal de sus curvas isoenzimáticas.

b) Las pacientes en etapa IV, quienes permanecieron con actividad tumoral a pesar del tratamiento, mostraron persistencia de las alteraciones isoenzimáticas. La elevación de la DHL total en esta etapa se mantuvo en cifras significativamente altas ($p < 0.03$).

6.- La mayoría de las enfermas (etapas II, III y IV) tuvieron incremento de la DHL total en la muestra post-tratamiento, independientemente que hubiera habido o no respuesta al tratamiento, por lo que consideramos que se trató de un cambio consecutivo más a efectos de la radioterapia que a la presencia de actividad tumoral.

7.- En las pacientes en etapas I y II hubo cambios inespecíficos del patrón isoenzimático, que consideramos de carácter "transicional".

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Warburg, O, and Minami, S.: *Klin. Wochenschr.* 2:776, 1923.
- 2.- Cori, C.F., and Cori, G.T.: Carbohydrate metabolisms of -- tumors, II. Changes in sugar, lactic acid and CO₂-combining power of blood passing through a tumor. *J. Biol. Chem.* 65: 397, 1925.
- 3.- Meister, A.: *J. Natl. Cancer Inst.*, 10: 1263, 1950.
- 4.- Nissen, N. I., Bohn, L.: *Lur. J. Cancer.* 1:217, 1965.
- 5.- Hill, B. R., Levi, C.: Elevation of serum component in neoplastic disease. *Cancer Res.* 14: 513, 1954.
- 6.- Hill, M.H.: Serum LDH in cancer patients. *J. Nat. Cancer-Inst.*: 18:307-313, 1957.
- 7.- Bierman, H. R., Hill, B. R., Emory, E., Reinhardt, L. and Samuels, A.: Correlation of serum LDH activity with the -- clinical status of patients with neoplastic diseases. *Proc. Am. A. Cancer Res.*, 2:5, 1955.
- 8.- Zimmerman, H. J. and Weinstein, H. G.: LDH activity in human serum. *J. Lab. Clin. Med.*, 48:607-616, 1956.
- 9.- Hsieh, K. M. and Blumenthal, H. T.: *Proc. Soc. Exp. Biol.-Med.*, 91:626. 1956.
- 10.-Wroblewski, R. and La Due, J. S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. - Med.*, 90:210, 1955.
- 11.-Wroblewski, R. and Gregory, K. F.: *Ann N. Y. Acad. Sci.*, -- 84:912, 1961.
- 12.-Wroblewski, F.: *Med. Clin. North Am.*, 45: 513, 1961.
- 13.-Denis, L. J. and Prout, G. R.: *Invest. Urol.*, 1:101, 1963.
- 14.-Kiser, W. S. and Riggins, R. S.: *J. Urol.*, 96:559, 1966.
- 15.-Riggins, R. S. and Kiser, W. S. : *J. Urol.* 90:594, 1963.
- 16.-Asada, M. and Galambos, J.T.: *Am. J. Dig. Dis.*, 7:1001,1962.

- 17.- Goldman, R. D., Kaplan, M. O. and Hall, T. C.: Cancer Res., 24: 389-399, 1964.: LDH in human neplastic tissues.
- 18.- Hoch-Ligeti, C.: Effect of irradiation and operation on - - serum LDH and GOT in patients with malignant tumors. Cancer, 15: 818-825, 1962.
- 19.- Warburg, O.: Stoffwechsel der tumoren. Berlin, Springer- - Verlag, 1926.
- 20.- Warburg, O, Posener, K., Negellein, E.: Uber der stoffwesch sel der carcinoma-zellen. Biochem. Z., 152:309, 1924.
- 21.- Warburg, O.: The metabolisms of tumors. London, Constable- and Co. Ltd. 1930.
- 22.- Warburg, O., Gowehn, K., Gheissler, A. W.: Uber die entste- hung des-Krebs-stoffweschsels in der gewebekultur. Z. Natur^u forsch., 13: 61, 1958.
- 23.- Warburg, O.: The prime cause and prevention of cancer. Ed. Friesch K. Wurzburg, 1967.
- 24.- Le Page, G. A.: Glycolysis in tumor homogenates. J. Biol.- Chem., 176: 1009, 1951.
- 25.- Sibley, J. A., Lehninger, A.L.: The aldolase activity in -- serum of patients with cancer. J. Nat. Cancer Inst., 9:303, 1949.
- 26.- Malmgreen, R. M., Flanagan, C.C.: Localization of the vege- tative form of Clostridium tetani in mouse tumors following intravenous spore administration. Cancer Res., 15: 473, 1955.
- 27.- Sapot, V., Pitot, H. C.: Isolation and fractionation of ri- bonucleic acid from the smooth endoplasmic reticulum of rat liver. Biochem. biophys. Acta., 119:37, 1966.
- 28.- Young, Lee, Strunk, R. C., Coc, E.L.: Coordination among -- rate limiting steps of glycolysis and respiration in intact ascities tumorcells. J. Biol. Chem., 242:2021, 1967.
- 29.- Haulica, A., Ababet, L.: Comparative study of glycolytic -- activity in the erythrocytes of animals with chronic experi- mental hypoxia and with tumours. Neoplasma, 21:29-35, 1974.
- 30.- Braunstein, H.: A histochemical study of the enzumatic activ- ity of human neoplasms. Cancer. 15: 184-188, 1962.
- 31.- Bierman, H. R., Hill, B.R., Reinhardt, L. and Emory, E: Co- rrelation of serum LDH activity with clinical status of - -

- patients with cancer lymphomas and leukemias. *Cancer. Res.*, 17:660-667, 1957.
- 32.- Hoch-Ligeti, C.: Effect of irradiation and operation on -- serum lactic dehydrogenase and glutamic oxalacetic transaminase in patients with malignant tumors. *Cancer*, 15: 818--825, 1962.
 - 33.- Barron, S. G., Dickman, S., Muntz, J. A. and Singer, T.P. : Studies on mechanisms of action of ionizing radiations; I, Inhibition of enzymes by X rays. *J. Gen. Physiol.* 32: 537-552, 1948-1949.
 - 34.- Kuhn, H.: Zur inaktivierung von milchsäure-dehydrogenase -- mit langsamen protonen. *Ztschr. Naturforsch.* 15-B: 277-284, 1960.
 - 35.- Brindley, C.O. and Francis, F. L.: Serum LDH and TGO correlations with measurements of tumor masses during therapy. - *Cancer Res.*, 23: 112-117, 1963.
 - 36.- Hill, B. R.: Electrophoretic fractionation of serum LDH. - *Cancer Res.* 21: 271-274, 1961.
 - 37.- Hill, B. R. and Levi, C.: Elevation of a serum component in neoplasia disease. *Cancer Res.* 14: 513-515, 1954.
 - 38.- Hill, J. H.: Serum LDH in cancer patients. *J. Nat. Cancer-Inst.* 18: 307-313, 1957.
 - 39.- Hsich, K. M. and Blumenthal, H. T.: Serum LDH levels in -- various disease states. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 91:626-630, 1956.
 - 40.- Starkweather, W. H. and Schoch, H. K.: Some observations on the LDH of human neoplastic tissue. *Biochem. Biophys. Acta* 62: 440-442, 1962.
 - 41.- Sylvin, B. and Bois, I.: Protein content and enzymatic -- assays of interstitial fluid from some normal tissues and -- transplanted mouse tumors. *Cancer Res.* 20:831-836, 1960.
 - 42.- Vesell, E. S. and Bearn, A. G.: Isoenzymes of LDH in human-tissues. *J. Clin. Invest.* 40: 586-591, 1961.
 - 43.- West, M. and Zimmerman, H. J.: Serum enzymes in disease. I. LDH and TGO in carcinoma. *A.M.A. Arch. Int. Med.* 102: 103-114, 1958.
 - 44.- White, L.D.: Serum enzymes. II. Glycolytic enzymes in patients with cancer and other diseases. *J. Nat. Cancer Inst.* 21: 671-684, 1958.

- 45.- White, L. D.: III. The significance of abnormalities of glycolytic enzymes in the serum of cancer patients. *J. Nat. Cancer Inst.* 21: 685-696, 1958.
- 46.- Wroblemski, F. and La Due, J.S.: LDH activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 90: 210-213, 1955.
- 47.- Bierman, H.R., Hill, B.R., Reinhardt, L. and Emory, E.: Correlation of serum LDH activity with the clinical status of patients with cancer, lymphomas and leukemia. *Cancer Res.* 17: 660-667, 1957.
- 48.- Hoch-Ligeti, C., Brown, T. J. and Arvin, J. M.: Effect of malignant growth on the organ LDH in the human. *Cancer.* 18: 1089-1095, 1965.
- 49.- Holmberg, B.: On the in vitro release of cytoplasmic enzymes from ascities tumor cells as compared with strain L cells. *Cancer Res.* 21: 1386-1393, 1961.
- 50.- Hoch, C., Harsen, F. J.: Enzymes in peripheral and bone marrow serum in patients with cancer. *Cancer*, 38: 1336-1343, 1976.
- 51.- West, M. and Zimmerman, H. J.: Serum enzymes in disease. *A.M.A. Arch. Int. Med.* 102: 103-114, 1958.
- 52.- Hsieh, K. M., Suntzeff, V and Cowdry, E. V.: Serum LDH activity as indication of neoplastic growth and regression. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 89: 627-629, 1955.
- 53.- Bodansky, O. and Scholler, J.: Comparison of phosphohexose isomerase and LDH activities in plasma, liver and tumor. Tissue of tumor bearing rats. *Cancer Res.*, 16: 894-900, 1956.
- 54.- Schwartz, M.A., West, M., Walsh, W.S. and Zimmerman, H. J.: Serum enzymes in disease. *Cancer.* 15: 346-353, 1962.
- 55.- West, M., Schwartz, M.A., Cohen, J. and Zimmerman, H.J.: Serum enzymes in disease. XV: Glycolytic and oxidative enzymes and transaminases in patients with carcinoma of the kidney, prostate and urinary bladder. *Cancer.* 17: 432-437, 1964.
- 56.- Piper, D. W., Griffith, E. M., Macoun, M. L., Broderick, F.L. and Fenton, B.H.: Relationship of activities of LDH, Beta glucuronidase, TGO in gastric carcinoma to that in fundic and pyloric mucosa. *Cancer.* 18: 1055-1058, 1965.
- 57.- Piper, D.W., Macoun, M.L., Broderick, F.I., Fenton, B. H. and Builder, J. E.: The diagnosis of gastric carcinoma by the estimation of enzyme activity in gastric juice. *Gastroenterology.* 45: 614-628, 1963.

- 58.- Piper, D. W., Macoun, M. L., Builder, J.E. and Fentos, B.H.: Non-proteolytic enzymes in human gastric juice. *Am. J. Dig. Dis.*, 8: 701-708.
- 59.- Levitan, R., Golub, M. and Zetzel, L.: DHL activity in saliva, bili, gastric juice and duodenal contents. *Am. J. Dig. Dis.*, 5: 458-265. 1960.
- 60.- Schenker, S.: LDH activity in gastric juice in the diagnosis of gastric cancer. A preliminary report. *Am. J. Dig. Dis.*, 4: 412-418, 1958.
- 61.- Smyrniotis, F., Schenker, S., O'Donnell and Schiff, L.: LDH - activity in gastric juice for the diagnosis of gastris cancer. *Am. J. Dig. Dis.*, 7: 712-726, 1962.
- 62.- Awais, G.M.: Serum lactic dehydrogenase levels in the diagnosis and treatment of carcinoma of the ovary. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 116: 1053-1057, 1973.
- 63.- Goldberg, D.M., Hart, D.M. and Watts, C.: Distribution of enzymes in human vaginal fluid. Relevance to the diagnosis on cervical cancer. *Cancer.* 21: 964-974, 1968.
- 64.- Hatzmichael, A.: Comparison of vaginal and cervical beta-glucuronidase in relation to cancer of the cervix and the uterus. *Am. J. Obstet. Gynec.* 84: 94-97, 1962.
- 65.- Kasdon, S.C., Fishman, W. H. and Homburger, F.: Beta-glucuronidase studies in women. II. Cancer of the cervix uteri. -- *JAMA*, 144: 892-896. 1950.
- 66.- Kasdon, S.C., Homburger, F., Yorshis, E. and Fishman, W.H.:-- Beta-glucuronidase studies in women. VI. Premenopausal vaginal fluid values in relation to invasive cervical cancer. -- *Surg. Gynec. Obstet.* 97: 579-583, 1953.
- 67.- Lawson, J.G.: Vaginal fluid beta-glucuronidase with special-reference to cancer of the cervix. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm.* 66: 946-953, 1959.
- 68.- Lorincz, A., Novelli, J, McGoogan. L. S. and Odell, L.D.: Beta-glucuronidase activity in human female genital cancer. *Am. J. Obstet. Gynec.* 61: 527-538, 1951.
- 69.- Odell, L.D., and Burt, J. C.: New diagnostic adjunct for - - uterine cancer. *JAMA*, 142: 226-230, 1950.

- 70.- Rauramo, L.: The significance of Beta-glucuronidase content in the vaginal fluid of patients with cancer of the uterus. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 11: 285-289, 1959.
- 71.- Bell, J.L. and Egerton, M.E.: 6-phosphogluconate dehydrogenase estimation in vaginal fluid in the diagnosis of cervical cancer. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm.*, 92: 603-609, 1965.
- 72.- Bonham, D. G. and Gibbs, D. F.: A new test for gynaecological cancer 6-phosphogluconate dehydrogenase activity in vaginal fluid. *Brit. Med. J.*, 2:823-824, 1962.
- 73.- Boyd, J. T., Gibbs, D. F., Labrum, A. H. and Philips, F.R.: Cervical screening for carcinoma- A comparison of cytological and enzyme (6-phosphogluconate dehydrogenase methods) and clinical findings. *Brit. Med. J.*, 1:785-792, 1967.
- 74.- Brooks, P.C. and Muir, G.C.: 6-phosphogluconate dehydrogenase activity in the cervical mucus and vaginal fluid in benign and malignant gynaecological lesions. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm.*, 74:111-114, 1967.
- 75.- Cameron, C.B. and Husain, O.A.N.: 6-phosphogluconate dehydrogenase activity in vaginal fluid- Limitations as a screening test for genital cancer. *Brit. Med. J.*, 1: 1529-1530, 1965.
- 76.- Hoffman, R.L. and Merritt, J. W.: 6-phosphogluconate dehydrogenase in uterine cancer detection. *Am. J. Obstet. Gynec.* 92:650-657, 1965.
- 77.- Moukhtar, M. and Higgins, G.: The early diagnosis of carcinoma of the female genital tract. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm.* 92:677-683, 1965.
- 78.- Muir, G.C.: Multiple enzyme studies in the vaginal fluid in relation to benign and malignant gynaecological conditions. *Brit. J. Cancer.* 20: 448-462, 1966.
- 79.- Muir, G.C. and Canti, G.: 6-phosphogluconate dehydrogenase activity in the vaginal fluid in benign and malignant gynaecological lesions. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm.* 73:611-620, 1966.
- 80.- Muir, G. G., Canti, G. and Williams, D.: Use of 6-phosphogluconate dehydrogenase as a screen test for cervical carcinoma in normal women. *Brit. Med. J.*, 2:1563-1565, 1964.
- 81.- Nerdrum, H.J.: The activity of 6-phosphogluconate acid dehydrogenase in vaginal secretions. A comparative study of-

- the activity in women with and without gynaecological cancer. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 16:565-569, 1964.
- 82.- Speechely, R.A., and Way, S.: Evaluation of 6-phosphoglucuronate deshydrogenase in carcinoma in situ of the cervix. -- *Aust. New Zeal. J. Obstet. Gynaec.*, 6: 61-63, 1966.
- 83.- Wootton, I.D.P., and Shepperd, I.: The use of an enzyme - - test as a primary screening test for gynaecological cancer. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Comm.*, 74:270-274, 1967.
- 84.- Iaurova, L, Jandova, A, Skoda, V. and Pezlarova, J.: Activity of LDH (L-Lactate: NAD Oxidoreductase 1.1.1.27) in carcinomatous endometrial and cervical tissues. *Neoplasma.* -- 21: 63-68, 1974.
- 85.- Jandova, A., Movotna, J., Macky, F.: Aktivitat der Laktat-- dehydrogenase im Blutserum und im Tumorgewebe bei patientinen mit malignen ovarialtumoren. Abstracts of papers- Regional Congress of the International Union of Physiological Sciences held in Brasov, Roumania on 10-16 August, 1970. 329.
- 86.- Schwartz, M.K.: Laboratory aids to diagnosis-enzymes. *Cancer.* 37: 542-548, 1976.
- 87.- Schwartz, M.K.: Enzymes in cancer. *Clin. Chem.* 19: 10-22.- 1973.
- 88.- Prasad, R., Kauffman, R.H., Munford, D.M.: Distribution of- isoenzyme patterns in cervical displasia. *Obstet. Gynaecol.* 43: 665-668, 1974.
- 89.- Goldberg, D.M., Heather, A.A. and Pitts, J.F.: Effect of -- radium treatment on activity and distribution of some enzi- mes in cancers of the human cervix uteri. *Cancer.* 20:1388- 1393, 1967.
- 90.- Errera, M.: Effects of radiation on cells. In the Cell. -- vol. 1. J. Brachet and A. E. Mirsky, eds. New York, Acade-- mic Press, 1959; p.p. 695-740.
- 91.- Brindley, C.O. and Francis, F.L.: Serum LDH and TGO corre-- lations with measurements of tumor masses during therapy. - *Cancer. Res.* 23: 112-117. 1963.
- 92.- Pedersen, S.N.: The glycolytic enzyme activity of the human cervix uteri. *Cancer.* 35:469-474, 1975.
- 93.- Ishihara, M.: LDH isoenzymes patterns of gynecological - - specimen on starch gel electrophoresis. *Eur. J. Cancer,* -- 3:545-546, 1967.

- 94.- Latner, A.I., Turner, D.M. and Way, S.A.: Enzyme and isoenzyme -O studies in preinvasive carcinoma of the cervix. -- Lancet ii: 814-816, 1966.
- 95.- Hilf, R.: Biochemical studies of experimental mammary tumors as related to human breast cancer. Methods Cancer. Res. 7: 55-114, 1973.
- 96.- Savlov, E.D., Wittliff, J.L., Hilf, R. and Hall, T.C.: Correlations between certain biochemical properties of breast cancer and response to therapy. A preliminary report. Cancer. 33: 303-308, 1974.
- 97.- Hilf, R., Savlov, E.D., Rector, W.D. and Wittliff, J.L.: -- Relationship of glycolytic enzyme activities and response - of breast cancer patients to chemotherapy. Cancer. 38: - - 695-700, 1976.
- 98.- Weber, G.: Molecular correlation concept. In The Molecular Biology of Cancer. H. Busch, Ed. New York, Academic Press, 1974; p.p. 487-521.
- 99.- Hilf, R., Rector, W.D., and Orlando, R.A.: Multiple molecular forms of LDH and glucose 6-phosphate dehydrogenase in - normal and abnormal human breast tissues. Cancer. 37:1825-1830, 1976.
- 100.- Talageri, V.R., Bhide, S.V., Gangal, S.G. and Randadive, K. J.: LDH isoenzyme pattern in normal and malignant human - - cells in vitro. Indian J. Biochem. Biophys. 12: 125-129, - 1975.