

43
205



Universidad Nacional Autónoma
de México

Facultad de Estudios Superiores
CUAUTITLAN



“Utilidad Clínica de la Enzima LDH y sus Isoenzimas”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A

MARTHA CECILIA LOPEZ CORTES

Asesor: Q.B.P. ANTONIO SANCHEZ ORTEGA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuautitlán, Edo. de México

1993



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 está 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.

INDICE

I.-	Objetivo	3
II.-	Introducción	4
III.-	Generalidades	5
	III.1.- Antecedentes	5
	III.2.- Características moleculares de LDH	6
	III.2.1.- Localización	9
	III.2.2.- Inhibidores de LDH	11
	III.2.3.- Valores de referencia	11
	III.3.- Metabolismo de LDH	12
	III.3.1.- Conversión del ácido pirúvico en ácido en ácido láctico	14
	III.3.2.- Cinética de la LDH a elevadas concentraciones de sustrato	20
IV.-	Métodos de determinación de LDH	24
V.-	Importancia clínica de la LDH	31
	V.1.- LDH en el infarto al miocardio	31
	V.2.- LDH en problemas hepáticos	35
	V.3.- LDH en otras enfermedades	35
VI.-	Casos clínicos relacionados con la elevación y decremento de LDH	39
	VI.1.- Etiología de la elevación de LDH	39
	VI.2.- Decremento de LDH	41

**- TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

VII.- Discusión	45
VIII.- Conclusiones	45
IX.- Referencias	47

1.- OBJETIVO

Realizar la recopilación e integración de material bibliografico de la enzima LDH, propiedades, características, valores normales, metabolismo y comportamiento en diferentes patologías.

II.- INTRODUCCION

La lactato deshidrogenasa (LDH) ha sido estudiada desde principios de siglo (1919) por Meyerhof quien fué el primer investigador en describirla y es a partir de este reporte donde ha ido acrecentandose el conocimiento de LDH como una enzima de importancia a nivel clinico.(88).

La LDH pertenece al grupo de las oxido-reductasas, es una enzima estereoespecifica del l-lactato, por lo tanto cataliza la reaccion de lactato a piruvato y juega un papel importante en la utilizacion de la glucosa en la via Embden-Meyerhof.(1)

A partir de su descubrimiento ha habido una gran cantidad de reportes de dicha enzima, la cual se encuentra en humanos (esto en suero, eritrocitos, plasma, plaquetas, organos y tejidos), en animales y leguminosas como frijol de soya, cebada, etc. (2).

De los reportes de LDH algunos han sido contradictorios en cuanto a su composicion y en cuanto su accion. (1,2).

Ya que una caracteristica de LDH es su elevacion en dano tisular de diferentes etiologias es importante considerar: Su funcion composicion, principales reacciones que cataliza pH optimo para la catálisis de las diferentes reacciones, sustancias inhibidoras de LDH, valores normales tanto de LDH como de sus isoenzimas, métodos de determinacion, su participacion en la homeostasis corporal e inclusive sus valores tanto de LDH total como de cada una de sus isoenzimas en pacientes con sindrome de inmunodeficiencia adquirida y de algunas de sus principales complicaciones. Constituyendo en la actualidad LDH una herramienta fundamental en la determinacion y seguimiento de una gran variedad de patologias; como, problemas hepaticos, problemas de corazon, tumoraciones etc. (3).

**TESIS CON -
FALLA DE ORIGEN**

III.- GENERALIDADES

III.1.- ANTECEDENTES :

La Lactato deshidrogenasa, es una Zinc-Metaloenzima que se halla exclusivamente en el citosol celular. Esta enzima tiene mas amplia especificidad que la mayoría de las oxido-reductasas y cataliza la oxidación reversible de otros ácidos l-alfa hidroximonocarboxilicos próximos al lactato (1950), con el cual muestra su mayor actividad. (4).

Se ha comprobado que también puede actuar como transportador de hidrógeno el NADP, a velocidad mucho menor, pero la enzima es estereoespecifica para la l-lactato. (4).

El descubrimiento en 1954 de que aspártico aminotransferasa (ASAT) se elevaba en infarto al miocardio tuvo un enorme impacto y a partir de aquí surge la enzimología moderna. Este descubrimiento y llevando a cabo un seguimiento durante años de (ASAT) Y alanina aminotransferasa (ALAT) que se incrementaban en suero de daño hepático llevó al concepto general de que las enzimas intracelulares son liberadas a circulación después de daño a tejidos. Lo que conllevó a un intenso estudio de otras enzimas en enfermedades, especialmente la creatinínasa (CK) y la lactato deshidrogenasa (LDH).(5).

En 1954 se demostró la presencia de LDH en eritrocitos humanos, observándose que poseían una actividad aproximadamente 150 veces mayor que la del plasma. (6).

En 1957 se comprobó que la actividad lactato-deshidrogenasica es propiedad de varias proteínas de algunas especies animales; durante este mismo año se demostró la heterogenicidad de la lactato deshidrogenasa del suero humano,

dando como resultado la presencia de tres fracciones importantes en el suero humano normal.(7).

finalmente en 1950 y 1951 se estableció la existencia de 5 fracciones proteicas en los tejidos y sueros humanos de la actividad de lactato deshidrogenasa. (8,9).

III.2.- CARACTERISTICAS MOLECULARES DE LDH

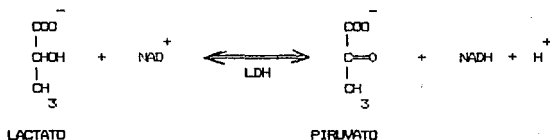
La LDH es un tetrámero constituido por 4 cadenas polipeptídicas, unidas fuertemente, pero no enlazadas covalentemente una con otra. Tiene un peso molecular aproximado de 140 000 daltons. El tetrámero esta constituido por dos diferentes subunidades; ellas son conocidas como LDH tipo M o LDH-A (esta es específica para músculo esquelético), y el tipo H o LDH-B (denominada para fracciones de corazón). (10,11,12,13). Estructuralmente LDH posee varias subunidades, y los tipos de estas subunidades, permiten ubicar que tiene isoenzimas: cinco en particular, estas son: H4, H3M, H2M2, HM3, M4; también conocidas como LDH-1, LDH-2, LDH-3, LDH-4, LDH-5. (14).

Aunque algunos autores han reportados 6 isoenzimas, se sugiere que la LDH-6 pueda ser alcohol deshidrogenasa y su presencia se asocia a un pobre diagnóstico de vida. (15,16,17,18,19).

La LDH es una enzima involucrada en la etapa final de la glucólisis (vía de Embden-Meyerhof). (1).

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

El pH óptimo para catalizar la reacción de lactato a piruvato es de 8.8 a 9.8, y para la reacción contraria (piruvato a lactato) es de 7.4 a 7.8 bajo la siguiente reacción:



Las isoenzimas puesto que están codificadas por dos genes diferentes, estas difieren en su composición aminoácida y por lo tanto en los valores de sus pH isoeléctricos. La biosíntesis de los dos tipos de cadenas, dan cantidades relativas de las isoenzimas presentes, en una determinada célula se encuentran bajo regulación genética, de ahí que existan en diferentes proporciones, en los diferentes tejidos. Además, las proporciones relativas de las isoenzimas de la LDH en un tejido cambian desde el desarrollo embrionario, se ha demostrado actividad de LDH sobre todo después de las semanas 7-8 y 12-13 de gestación, principalmente de 4 isoenzima LDH-1, LDH-2, LDH-3, y LDH-5.(20). En la determinación de LDH en fluido cerebrospinal de neonatos para evaluar el daño hipóxico del sistema nervioso central se encuentra que los niveles más elevados se presentan en neonatos quienes fallecen debido a la lesión hipóxica del sistema nervioso central. Niveles más bajos de actividad se presentan en neonatos con hallazgos neurológicos permanentemente normales durante su infancia. Esto es de importancia para un adecuado pronóstico del desarrollo psicomotor subsecuente de los niños.(21).

Para los valores normales tanto de LDH como de sus isoenzimas debe tomarse en cuenta la variación biológica debida a raza, edad, época del año y sexo.(22).

En las aves adultas se ha demostrado una actividad de LDH en músculo pectoral, superior a los polluelos, lo cual también correlaciona con el concepto de que a mayor ejercicio o trabajo, habrá mayores niveles de LDH.(23).

Se ha determinado la actividad de LDH en orina de neonatos, un incremento en las isoenzimas LDH-4, LDH-5, fue más marcada en sexo femenino que en sexo masculino, esto lo explican por la presencia de células epiteliales derivadas de la vagina.(24).

Las isoenzimas de LDH difieren en su estructura terciaria, carga de reactividad a sustratos, sensibilidad a los inhibidores, resistencia a la inactivación por calor, ser lábiles al frío y movilidad electroforética. Todas estas propiedades son usuales en el trabajo de diagnóstico clínico cuando los niveles de isoenzima de LDH son anormales.(1).

LDH-1 se mueve hacia el Anodo, mientras LDH-5 se mueve hacia el cátodo en una placa de electroforesis. Fig. 1

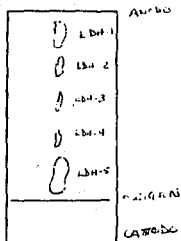


Fig. 1 Migración electroforética de LDH-1 a LDH-5. (92).

LDH-4 y LDH-5 son lábiles a la refrigeración; así pues deberá conservarse a temperatura ambiental.(1).

LDH-1 y LDH-2 oxidan el alfa hidroxiburato más rápidamente que LDH-5. La vida media de LDH-1 es de 18 horas, mientras que la LDH-5 es de 5 horas. La enzima es inactivada en la circulación y excretada en bilis y en intestino.

LDH-6 es extremadamente estable a 56 , 40 y 25 C. Es más estable al calor que LDH-5. Tiene un punto isoelectrico en un pH entre el rango de 9.0 - 9.6. Dicha isoenzima no es un complejo inmuglobulinico y contiene subunidad M, pero no subunidad H. (1,18,19).

La liberación celular de LDH usualmente es debida a daño toxico, pero puede además ser inducida por alta o baja temperatura (fiebre o hipotermia) o daño por agentes químicos fármacos o microorganismos. Niveles elevados de LDH puede ser debido a la liberación combinada de esos factores (32).

Se ha demostrado experimentalmente la variabilidad de la cantidad de LDH total obtenida de hígado de rata a elevadas temperaturas, con lo cual, al aumentar la temperatura, aumenta la liberación de LDH (26).

III.2.1.- LOCALIZACION

LDH esta presente en el citoplasma de células en humanos, el gene que codifica para LDH se encuentra localizado en el cromosoma 11. (35). La cantidad de LDH en tejidos es aproximadamente 500 veces mayor en tejidos que en suero. Los mayores niveles son encontrados en músculo esquelético, hígado, corazón, riñón y en la serie roja sanguínea. (1).

Se ha demostrado también la existencia de una gran cantidad de LDH en el músculo pectoral de ciertos acuáticos (23), y en mitocondria de hígado de ratas. (26).

En peces (*Boleophthalmus boddarti* y *Periophthalmodon svhlosseri*) también se encuentran elevadas cantidades de LDH e inclusive se encuentra hasta 100 veces actividad mayor en músculo que en hígado. (27).

LDH-1 se encuentra en elevadas concentraciones en el corazón, corteza de riñón, serie roja sanguínea, megablastos, páncreas, músculo esquelético fetal. (1,10,11,12,13,24).

LDH-2 se encuentra en elevadas concentraciones en corazón, serie roja sanguínea, nódulos linfáticos, tiroides, bazo, pulmón y carcinoma de ovario y testicular. (1,10,13,24).

LDH-3 se encuentra en elevadas concentraciones en nódulos linfáticos, pulmones, adrenales y tiroides. (1,10,11,24).

LDH-4 se encuentra en elevadas concentraciones en músculo esquelético, granulocitos maduros y linfocitos. (1).

LDH-5 se encuentra en elevadas cantidades en músculo esquelético, hígado, neutrófilos, líquido cefalorraquídeo, fluido cerebrospinal, carcinoma de ovario y orina. (12,13,24,63,70).

LDH-6 se encuentra en elevadas cantidades en hígado como consecuencia de un daño severo. En daño al corazón (en daño al miocardio). (1). También está presente en algunos estados de pre-eclampsia. (15,16,38).

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

III.2.2.- INHIBIDORES DE LDH

El primer reporte sobre la inhibición del piruvato de LDH a concentraciones relativamente altas de piruvato fue hecho por Kubowitz.(11). Es bien conocido que el piruvato es un sustrato inhibidor de la LDH, pero ciertas investigaciones indican que el piruvato hidratado es un mayor inhibidor de LDH y forma un complejo inhibidor con la enzima y coenzima oxidada.(27).

Otras sustancias que inhiben a la LDH son fluoruro, oxalato, citrato acrilamida, oxamato, complejos EDTA.Ca²⁺, cisplatina. (28,29,30,31).

Fármacos antidepressivos como amitriptilina, desipramina, mianserina y citalopramina.(32).

Antihipertensivos bloqueadores de los canales lentos del calcio como verapamil.(33).

Algunos anticuerpos inhibidores de la alcohol deshidrogenasa como los anticuerpos policlonales de conejo pueden inhibir a lactato deshidrogenasa y a otras deshidrogenasas debido a una reactividad cruzada por la cercanía de un sitio antigénico cerca de la región de enlace de NADH en cada una de estas enzimas.(34).

III.2.3.- VALORES DE REFERENCIA :

DE ACUERDO AL METODO ENZIMATICO. (90,91,92).

	25 C	30 C	37 C
LDH =	80 - 240 U/l	106 - 317 U/l	151 - 454 U/l
HBDH/LDH =	0.63 - 0.81	0.53 - 0.68	0.45 - 0.58

VALORES PATOLÓGICOS :

	25 C	30 C	37 C
En lesiones miocárdicas.- HDH/LDH	0.9	0.7	0.6
En las lesiones hepáticas.- HDH/LDH	0.6	0.5	0.45

LOS RANGOS DE REFERENCIA NORMAL PARA LAS ISOENZIMAS DE LA LDH DETERMINADAS POR ELECTROFORESIS DE AGAROSA SON. (1):

- LDH-1 del 15 al 32%
- LDH-2 del 25 al 44%
- LDH-3 DEL 12 AL 29%
- LDH-4 del 3 al 16%
- LDH-5 del 3 al 16%

III.3.- METABOLISMO DE LA LDH

Existen básicamente dos tipos de órganos o tejidos: 1) Los que requieren un elevado y sostenido suministro de energía para realizar sus funciones, estos son corazón y cerebro. 2) Los que solo bajo ciertas condiciones necesitan suministro alto de energía como ocurre en el caso del músculo esquelético. Esta energía se obtiene básicamente de la glucólisis, este proceso se da principalmente en citoplasma.

Básicamente la reacción de la glucólisis se da en dos fases.(fig 3).

- 1.- La congregación de azúcares sencillos y su conversión en gliceraldehído-3-p
- 2.- Conversión del gliceraldehído-3-p y conservación de la energía en forma de ATP;el rendimiento neto de la fase uno más la fase dos es de dos ATP por molécula de glucosa.

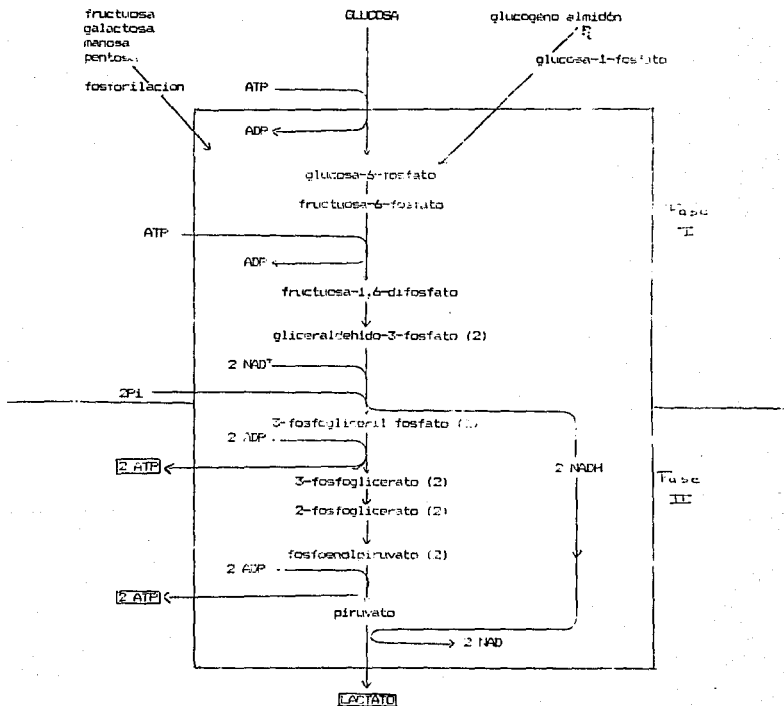


Fig. 2 Esquema de les dos fases de la glicolisis. (93).

TELEVISIÓN CON
FALLA DE ORIGEN

La enzima LDH participa en la reacción de glicólisis, dicha reacción ha sido mencionada con respecto a su significado operacional en terminos de su acoplamiento interno con el fin de regenerar NAD^+ de esta forma, bajo condiciones anaeróbicas la vía glucolítica es autosuficiente. Sin embargo, esa no es la única función metabólica de la lactato deshidrogenasa (LDH), otra característica operacional de importancia es que la enzima cataliza también la reacción inversa, es decir la formación de piruvato a partir de lactato. En los animales el significado de esto es que el lactato generado en el metabolismo anaeróbico de algunos tejidos aeróbicos, tales como hígado donde es convertido nuevamente a piruvato. El piruvato puede luego ser metabolizado mediante el ciclo de ácido cítrico o ser reconvertido en carbohidratos, como glucosa libre, o almacenado como glucógeno. Este último proceso implica otras etapas reversibles de la vía glucolítica, llamada gluconeogénesis. (39, 40).

III.3.1. CONVERSION DEL ACIDO PIRUVICO EN ACIDO LACTICO

En condiciones anaeróbicas, la reoxidación del NADH por la transferencia de equivalentes reductores a través de la cadena respiratoria hasta el oxígeno, es evitada. El piruvato es reducido por el NADH hasta lactato, siendo la reacción catalizada por la enzima lactato deshidrogenasa.

La reoxidación del NADH, por la vía de la formación del lactato, permite que la glucólisis prosiga en ausencia de oxígeno al regenerar suficiente NAD^+ para otro ciclo de la reacción catalizada por la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa. Así, los tejidos que pueden funcionar bajo circunstancias de

hipoxia, tienden a producir lactato. Esto es particularmente cierto en el músculo esquelético, donde la velocidad con que el órgano hace trabajo no está limitada por su capacidad de oxigenación. Las cantidades adicionales de lactato producidas pueden ser determinadas en los tejidos, en sangre y orina. La glucólisis en los eritrocitos, aún en condiciones anaerobias, termina siempre en lactato porque la mitocondria que contiene la maquinaria enzimática para la oxidación aerobia del piruvato no está presente. El eritrocito del mamífero es único en el sentido que el 90% de su requerimiento de energía total es suministrado por la glucólisis. Además del músculo esquelético, de los eritrocitos, otros tejidos que normalmente producen lactato incluyen el conducto gastrointestinal, la médula renal y la piel; el hígado, riñones, cerebro y corazón por lo general captan al lactato pero lo producirán bajo condiciones de hipoxia. (1).

En muchas circunstancias la glucólisis disminuye con la presencia de oxígeno. Esquemáticamente queda así:

CONDICIONES AEROBICAS

Bajo consumo
de glucosa



Bajo consumo
de ác. láctico

CONDICIONES ANAEROBICAS

Alto consumo
de glucosa



Alta producción
de ác. láctico

El suministro de energía alto y sostenido para tejidos como el cardiaco se logra gracias a la presencia de la isoenzima LDH-1, mediante el siguiente

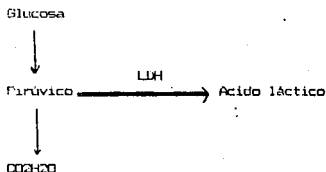
mecanismo: Altas concentraciones de ácido pirúvico inhiben a la LDH-1 de modo que el ácido pirúvico no se reduce a lactato, sino que se desvía de preferencia hacia ciclo de Krebs, cadena respiratoria y fosforilación oxidativa, para producir la mayor cantidad de energía posible, porque la degradación de la glucosa hasta ácido pirúvico, produce solamente 2 ATPs, en tanto que la degradación aeróbica de la glucosa produce 36 moléculas de ATP. Para tejidos como el músculo esquelético sucede lo siguiente: En este tejido existe una alta concentración de LDH: la LDH-5 a diferencia de LDH-1 no se inhibe ante elevadas concentraciones de sustrato. En este tejido hay menor cantidad de mitocondrias en relación con cerebro o corazón y además es un tejido poco irrigado consecuentemente con un pobre aporte de oxígeno. A diferencia del miocardio, un músculo con elevada capacidad aeróbica, en donde predominantemente existe la subunidad H, de LDH y consecuentemente las isoenzimas LDH-1 y LDH-2. (41).

Así mismo en tejido músculo esquelético y en tejido embrionario tienden a utilizar la glucosa anaeróbicamente, degradandola hasta formar lactato en el proceso de la glucólisis. Así que cuando hay un requerimiento alto de energía, esta energía se tiene que obtener a partir de la degradación anaeróbica de la glucosa con una consecuente acumulación de ácido láctico, esto se logra por la presencia en el tejido de la LDH. (93).

El músculo esquelético forma normalmente ácido láctico a partir de glucosa formando primero ácido pirúvico y con la presencia de LDH-5 se favorecerá la formación de ácido láctico y no CO_2 y H_2O .

En reposo el ácido láctico va hacia la sangre, y de ahí pasa al hígado donde se lleva a cabo la gluconeogenesis. Una quinta parte del ácido láctico pasa a pirúvico, el cual es degradado hasta CO_2 y H_2O para obtener la energía.

En el hígado el lactato se deshidrata a piruvato y de ahí regresa a músculo esqueleto. Por otra parte el músculo cardíaco no forma normalmente lactato a partir de la glucosa, siendo el piruvato a dióxido de carbono eróticamente, sin que tenga lugar la formación intermedia de lactato, quedando así:

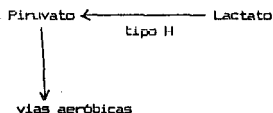


Esquema de LDH en metabolismo anaeróbico.

Los diferentes tejidos tienen distintos tipos de isoenzimas de la LDH, apropiadas para realizar la función del tejido en el cual se encuentran. El músculo cardíaco, que funciona en condiciones aeróbicas, tiene principalmente las isoenzimas LDH-1, LDH-2 y LDH-3, aunque cabe mencionar que el corazón está constituido por diferentes cámaras, las cuales varían en la distribución de las diferentes isoenzimas de LDH y en su actividad, ya que se ha demostrado una variación de hasta 2 veces de la subunidad H en algunas de las cámaras del corazón (esto en sujetos sanos). La actividad de la subunidad M llega a variar hasta en un 20 % en las diferentes cámaras del corazón, y es en el músculo papilar del ventrículo izquierdo donde existe la mayor actividad de LDH. (42).

Los tejidos que contienen las isoenzimas LDH-1 producen muy poco ácido láctico debido a que el ácido piruvico formado por la glucólisis se oxida

hacia vías en que puede ser oxidado completamente (a $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$), produciendo la mayor cantidad de energía que se requiere para mantener un trabajo mecánico continuo. Esto ocurre debido a que el piruvato inhibe las isoenzimas tipo II de la LDH. Como resultado la enzima se usa para la conversión de lactato en piruvato de dichas células.



Por otra parte, hay períodos en el funcionamiento del músculo esquelético, en los que falta el oxígeno (condiciones anaerobias). En estas condiciones, las isoenzimas (las cuales solo se inhiben débilmente por el piruvato) del músculo (principalmente LDH-M4) transforman grandes cantidades de ácido pirúvico a una alta velocidad en ácido láctico. En los intervalos de relajación, el suministro de oxígeno aumenta con relación a su utilización y el ácido láctico se reconvierte en piruvato, que se oxida completamente a través del ciclo tricarboxílico y de la fosforilación oxidativa. Sin embargo, durante la actividad muscular intensa la mayor parte del ácido láctico producido pasa a la sangre y es transferido al hígado. Ahí se metaboliza a otros productos tales como el ácido pirúvico, la glucosa, etc. Este proceso es conocido como el ciclo de Cori. fig. 3.

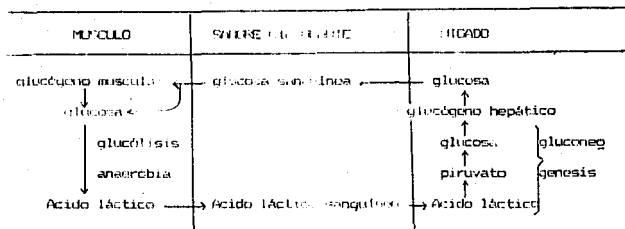


Fig. 3 Ciclo de Leri (94).

La lactato deshidrogenasa es una enzima intracelular y el perfil de la isoenzima esta relacionado con el tipo de actividad metabólica del tejido. Si hay interacciones en la permeabilidad celular o lesiones y destrucción celular, las isoenzimas de LDH son vertidas a sangre. En dichas condiciones aumentan las concentraciones de la LDH del suero y el patrón de las isoenzimas del suero indica el tejido lesionado.

La literatura reporta mioglobinuria debido a anomalías enzimáticas en la vía glucolítica, especialmente la deficiencia de la subunidad M de lactato deshidrogenasa, donde se ha observado que la deficiencia de dicha enzima provoca un marcado incremento de la concentración de piruvato, específicamente cuando hay deficiencia de la subunidad M de LDH; de los cuales han sido reportados 4 casos en la población japonesa. La sintomatología presentada es: calambres musculares, dolor muscular y rhabdomyolisis al llevar a cabo ejercicio de manera extrema, y una característica propia de esta deficiencia es que presentan mioglobinuria, su pronóstico es usualmente bueno. (43,44).

En los atletas se previenen actividades normales de LDH; sin embargo un incremento significativo de LDH ocurre después del estrés físico. Ninguno de

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

los cuales tiene hemólisis visible. El incremento de LDH sérico es debido a la hemólisis in vivo o a la liberación del músculo esquelético, porque hay un decremento significativo en la haptoglobina sérica, al menos el 50% de la LDH proviene de los eritrocitos hemolizados. La haptoglobina enlaza la hemoglobina libre; este complejo es eliminado y la haptoglobina sérica disminuye.

III.3.2.- CINÉTICA DE LA LDH A ELEVADAS CONCENTRACIONES DE SUSTRATO

La actividad de la LDH es inhibida en la presencia de elevadas concentraciones de piruvato, siendo reportado esto por primera vez por Kubowitz. Como se ilustra en la fig. 4, la cual muestra que la actividad de la isoenzima H4 de origen humano es particularmente sensible a las altas concentraciones de piruvato: A una concentración de piruvato de 10 mmol/l, solamente el 40% de la actividad permanece, mientras la isoenzima M4 aún tiene cerca de 70% de la actividad. (46,47,48).

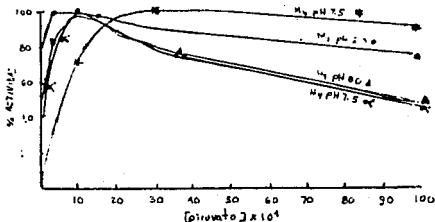
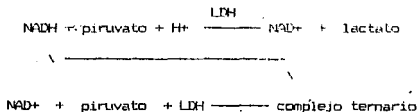


Fig. 4. Actividad de las isoenzimas M4 y H4 en función de la concentración de piruvato (mmol/l) $\times 10^4$ (46).

Se ha demostrado que aunque todas las isoenzimas catalizan la misma reacción, difieren significativamente en sus valores de K_m respecto a sus sustratos, particularmente respecto al piruvato, así como de sus valores de $V_{m\acute{a}x}$ cuando el sustrato es el piruvato. La isoenzima M4, característico del músculo esquelético posee un valor relativamente bajo de K_m para el piruvato y una $V_{m\acute{a}x}$ relativamente elevada en la reducción del piruvato a lactato. (93,95).

La isoenzima H4, es característica del corazón y otros músculos rojos, posee una K_m relativamente elevada para el piruvato y lo reduce a una velocidad relativamente baja. (93,95).

La LDH puede formar algunos complejos ternarios que puedan causar una inhibición de la actividad enzimática. El complejo ternario está constituido por una coenzima oxidada (NAD^+), piruvato y una enzima (LDH). Este es el complejo responsable para la inhibición de la enzima en presencia de elevadas concentraciones de piruvato. Los posibles mecanismos de reacción de inhibición del sustrato por piruvato se esquematizan en las siguientes ecuaciones:



Las reacciones anteriores sugieren que NAD^+ se genera en la primera reacción, el complejo ternario es formado, el cual compete con $NADH$, finalmente resulta en la inhibición observada. Se ha establecido que el complejo ternario consiste en piruvato adicionado a NAD^+ el cual está enlazado a la enzima LDH; el modelo que representa al complejo es mostrada en la fig. 5

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

condiciones usadas, mientras que la isoenzima H es considerablemente inhibida después de los primeros 0,5 seg., mezclas de 2 isoenzimas homólogas también como las formas híbridas H₂M, H₂H y H₃H, producen curvas que son intermedias de esas dos curvas en proporción a su contenido de isoenzimas.(14).

La función del complejo ternario limitante, el cual es más favorecido con la subunidad H que con la M de LDH, podría ser defina a las células basándose en la glicólisis de su producción energética. Se cree que una de las razones para la evolución de las 2 mayores subunidades de LDH es por la presencia de catálisis, la cual podría no ser fácilmente sujeta a la formación del complejo ternario y podría entonces ser capaz de funcionar y estar lista para la oxidación de NADH generada durante la glucólisis. El grado de la formación del complejo ternario es ciertamente dependiente de la proporción $NAD^+/NADH + H^+$. Consecuentemente, esta proporción puede entonces ser importante factor en la regulación de la actividad particularmente de la subunidad H de LDH en vivo. En todos los tejidos, los niveles de NAD^+ son mayores que la enzima reducida. El músculo esquelético contiene la mayoría de las coenzimas en la forma oxidada. La concentración de piruvato usualmente encontrada en músculo también como los niveles de NAD^+ podrían favorecer la formación para el complejo ternario si la catálisis de H estuviera presente en los tejidos en lugar de la subunidad M de LDH. Para la mayor parte de los tejidos aeróbicos, como el corazón, en contraste con los musculos voluntarios. La oxidación de $NADH + H^+$ formada de la vía glucolítica, se lleva a cabo directa o indirectamente a través de la mitocondria, mientras que la reducción del piruvato normalmente no ocurre en una extensión significativa en células muy aeróbicas como un mecanismo para la oxidación de NAD^+ . La formación del complejo ternario de LDH del corazón entonces proviene del piruvato de un comienzo derivado del lactato

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

desde que el ceto-acido es usualmente metabolizado a través de la mitocondria en tejidos aeróbicos como el corazón. El complejo ternario de la subunidad H de la enzima, puede entonces jugar un papel regulador en el control de las actividades metabólicas normales del corazón. Una comparación de las propiedades entre las 2 subunidades de LDH sugiere fuertemente que la subunidad H de LDH posee características de enzima reguladora; no siendo así para la subunidad M. La regulación es relacionada con las relativas cantidades de NAD⁺ y NADH. (49).

Finalmente ha sido sugerido que para la LDH de los eritrocitos humanos, los efectos inhibitorios dados por elevadas concentraciones de piruvato son causados por el complejo binario de LDH-piruvato. (49).

IV .- METODOS DE DETERMINACION DE LA LDH

Las determinaciones de LDH total y sus isoenzimas son llevadas a cabo en suero, el cual no debe estar hemolizado.

Los métodos para determinación total de LDH están basados en dos tipos de reacciones para su cuantificación: 1) a partir de lactato a piruvato y 2) de ácido pirúvico a ácido láctico.

El pH óptimo para llevar a cabo la reacción es de 8,0 a 7,8 con un ensayo de una mezcla de NAD 5 mmol/lit de piruvato. Las ventajas de la primera reacción son: a) pocos inhibidores de la LDH, b) menor sustrato de inhibición y c) reacción lineal más prolongada. La reacción reversiva es menos cara y más precisa y los reactivos son más estables en las soluciones de prueba.

Métodos antiguamente empleados a nivel clínico. (partiendo de piruvato a lactato), como son:

Método colorimétrico.-

FUNDAMENTO.- El piruvato reacciona con la (2,4 DNPH) para formar la fenilhidrazona correspondiente, la cual tiene color pardo dorado a un pH alcalino, como se aprecia en la reacción de la fig. 6.

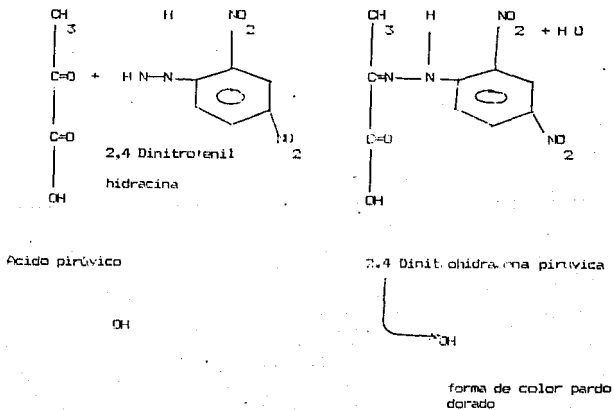


Fig.6. Reacción de la 2,4-dinitrofenilhidrazona por el método colorimétrico.(88).

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Otro método colorimétrico

FUNDAMENTO.- Se basa en la reducción de colorantes como 2,6-dicloro-*p*-indofenol o de cloruro de 2-*p*-yodofeniltetrazolio (INT), por el NADH formado en la reacción directa. El metilsulfato de fenacina (PS) sirve como intermediario o portador de electrones entre el NADH y los colorantes.(88).

Este método cuantifica la LDH por la producción de NADH. y esto es adicionando nitroazul de tetrazolio (NTB), el cual es reducido a formar: el cual es determinando midiendo la densidad de color.(88).

Método espectroscópico:

Es un método poco común para la determinación de NADH.

FUNDAMENTO.- Se basa en la reacción específica de LDH en la transferencia de hidrógeno, llevando a cabo una interacción no covalente, cuando se enlaza el cofactor acetil piridina adenina dinucleotido (NAD⁺) a lactato deshidrogenasa.(50).

Método por quimioluminiscencia:

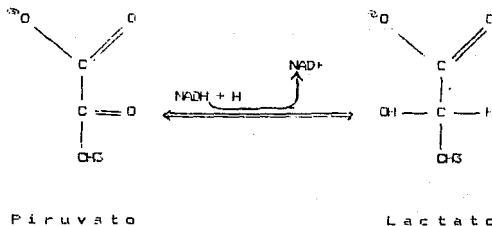
Es otro método sofisticado para la cuantificación de la actividad de LDH total que se ha empleado.

FUNDAMENTO.- se basa en la determinación de la unicencia dada por la reacción de una mezcla de peróxido de hidrógeno con luminol ferricianuro, utilizando una columna de lactato oxidasa y otra columna con lactato oxidasa/catalasa. El peróxido de hidrógeno es producido por la reacción de lactato oxidasa del lactato, el cual es producido por LDH en suero. Cabe mencionar que se reporta una precisión satisfactoria midiendo actividades de LDH desde 5.6 mol/lit. hasta 1840 U./l. (51).

En la actualidad los laboratorios de asistencia pública utilizan determinaciones fotonómicas como:

METODO CINETICO UV.

FUNDAMENTO.- Las Lactato Dehidrogenas catalizan la reducción de piruvato por el NADH2 según la siguiente reacción:



para la valoración cuantitativa de la enzima se deja actuar el suero problema sobre piruvato y NADH y se mide fotonométricamente la velocidad de reacción.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Esta valoración, junto con una determinación de las isoenzimas de LDH características de miocardio, o sea, la llamada alfa-hidrobutirato-deshidrogenasa (HBDH), es de gran valor para el diagnóstico diferencial, pues, por comparación de ambos resultados, pueden distinguirse las alteraciones cardiacas de las hepáticas.(90).

Las isoenzimas de LDH pueden ser determinadas por varios procedimientos. Como son la inmunoprecipitación, técnicas cromatograficas de intercambio iónico y el método mas comunmente utilizado la electroforesis.

Método por electroforesis:

Las isoenzimas de LDH pueden ser separadas por electroforesis en agarosa o medio de acetato de celulosa. Después de la separación electroforetica, las isoenzimas son coloreadas con la colocación de una mezcla de 500 mol/lit. y 13 mol/lit de NAD+ sobre las isoenzimas. La reacción es amortiguada por AMPD, barbital, bicina y ácido aspártico a un pH = 8. Se produce NADH el cual es cuantificado a 340nm UV. (90).

Pruebas inmunocímicas de las subunidades H y M:

Es llevada a cabo con el siguiente procedimiento.- A 100 microlitros de suero del paciente se les agrega una gota de anticuerpo de la subunidad M de la LDH presente en LDH-2, LDH-3, LDH-4 y LDH-5. Esto es seguido por una precipitación de la isoenzimas de LDH, LDH-2, LDH-3, LDH-4 y LDH-5, excepto de LDH-1, utilizando un segundo anticuerpo insoluble al anticuerpo de la subunidad

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

anti M. Ahora es cuantificada LDH-1. La gota del anticuerpo así pues reacciona con todas las isoenzimas de LDH que contienen la subunidad M. LDH-1 solamente contiene subunidad H y así no se une a la gota del anticuerpo. El segundo anticuerpo. El segundo anticuerpo conjugado a un reactivo de fluoruro de polivinilo reacciona con la gota del anticuerpo del complejo LDH-2, LDH-3, LDH-4, LDH-5 y precipita el complejo, quedando LDH-1 en solución el cual es cuantificado.

LDH-4 y LDH-5 son lábiles a la refrigeración; así pues deberá conservarse a temperatura ambiental.

LDH-3 es derivado de plaquetas. Así que, LDH en suero puede llegar a ser 4 veces mayor que en plasma debido a la liberación de LDH en plaquetas.

LDH-1 es liberado por los agentes que rompen las células sanguíneas rojas. No deberán ser empleados durante la determinación de LDH las siguientes sustancias: Fluoruro, Oxalato, citrato, cisplatina, tramplintina y productos de la hidrólisis de la cisplatina, ya que inhiben ala LDH. (31).

Algo más que debemos considerar en la determinación de LDH es que la lipemia y la bilirrubina no interfieren en su determinación, pero el ácido ascórbico sí.

El medio de soporte para la electroforesis de las isoenzimas afecta los rangos de referencia de la isoenzimas. El uso de agarosa causa niveles mas bajos de LDH-4 y LDH-5, con elevados valores de LDH-3. Las técnicas colorimétricas causan elevados valores de LDH-1 y LDH-2 en comparación con la técnica de fluorometría, pero esta es causante de valores elevados de la LDH-5. Una forma para probar LDH-1 es la determinación de la cantidad de alfa hidroxiburato deshidrogenasa. Esta prueba no es mas larga que la usual para LDH-1.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

determinación de LDH-6:

El análisis bioquímico para determinar si LDH-6, era una macromolécula consistente de inmunoglobulina y LDH (macroLDH) fue llevada a cabo. Para absorber el posible complejo de la isoenzima de LDH con IgG se utilizó proteína A de estafilococo (cefalosa C1-4b). El complejo cefalosa C1-4b proteína A absorbe fluidos biológicos. Aliquotas de suero de pacientes fueron incubadas con la proteína A cefalosa C1-4b por diez minutos. El complejo de agarosa fue removido por centrifugación y la actividad de la isoenzima en el sobrenadante fue reevaluada por electroforesis de la isoenzima.

Los ensayos inmunológicos de LDH subunidad H y M usando anticuerpos ANTI -M causaron inmunoprecipitación de la banda de la isoenzima LDH-6. La única isoenzima que persistió fue LDH-1. En suma, ocurrió la inmunoprecipitación de las isoenzimas LDH-2, LDH-3 LDH-4 y LDH-5. Así pues, LDH-6 contiene subunidad M pero no subunidad H. La utilización de proteína de estafilococos C1-4b no removió la banda de la isoenzima LDH. La banda de la isoenzima LDH-6 persistió, indicando que la isoenzima LDH-6 no es ni una macroenzima ni un complejo macromoleculer IgG-LDH. Sino que pudiera ser una modificación bioquímica (un polímero o un agregado) de LDH-5. Existiendo una pequeña diferencia en cuanto a su carga química (25).

Ademas el análisis químico demostró que LDH-6 es extremadamente estable. este persistió a la aplicación de calor (56 C) durante 45 minutos. Esto es demostrable almacenandola a 4 C y 25 C por siete días.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

V.- IMPORTANCIA CLINICA DE LA LDH

V.1.- LDH EN EL INFARTO AL MIOCARDIO

El daño a miocardio es usualmente causado por enfermedad de cardiopatía isquémica. Esto además puede ser causado por virus, agentes químicos, o fármacos productores de miocarditis. Puede ocurrir en la contusión traumática de corazón. (1).

Pacientes con infarto agudo al miocardio (IAM), usualmente experimentan un dolor a lo largo del pecho unido a otros síntomas y signos característicos. Un número de infartos agudos al miocardio son silenciosos así como sus síntomas, presentándose una reperfusión una vez que se ha consumado el IAM. (55).

Así pues los hallazgos del laboratorio en un paciente con posible infarto agudo al miocardio, o un infarto silencioso al miocardio son importantes en la confirmación o descarte de un infarto agudo. Se ha encontrado que las únicas enzimas probadas requeridas para el diagnóstico de IAM son CK-MB y LDH-1, LDH-2; las cuales pueden ser fácilmente determinadas en unas pocas horas, así pues los resultados rutinariamente pueden entregarse el mismo día. Los picos de la actividad de CK-MB es entre 24 y 48 hrs después del punto del IAM y desaparece al rededor del 3er. día. Los picos en la actividad de LDH-1 y LDH-2 se dan en 2 a 3 días después del infarto y permanecen incrementados por a menos 5 días. Se recomienda que el mejor método de diagnóstico IAM es dar clínicamente una orden de "3 isoenzimas de miocardio". El laboratorio entonces hace CK-MB, LDH-1 y LDH-2 cada una por tres días. Esto, con la eliminación de las pruebas totales de CK, aspartato aminotransferasa y alfa-HBD, para mejorar la exactitud del diagnóstico sin incrementar el costo de la estancia del

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

paciente. La medición de la LDH total es ocasional; ya que esta no mejora el diagnóstico para el IAM por si misma, esta determinación puede ser usual en el monitoreo de cambios de un patrón isoenzimático diferencial de corazón a hígado, como podría ocurrir en la falla congestiva de hígado acompañado de IAM.(56).

Aunque otros autores reportan como un estándar para el diagnóstico de laboratorio en un infarto agudo al miocardio la presencia de una elevación total de la creatinínasa (CK) y una CK-MB mayor que el 6%. CK-MM se eleva aproximadamente 6 horas después de que comienza el dolor en el pecho. CK-MB se eleva conjuntamente o dentro de una o dos horas después de que la CK-MM se eleva. La única condición que puede causar una total elevación de CK y CK-MB mayor al 6% es una prominente rabdohemolisis. LDH-1 y la total LDH se elevan dentro de las 10 horas siguientes al comienzo del infarto agudo al miocardio. LDH-1 alcanza un pico dentro de 48 horas y regresa a la normalidad en aproximadamente 10 días. La elevación de LDH-1 contrasta con la elevación de CK-MM y CK-MB en IAM. CK-MM alcanza picos a las 24 horas y regresa a la normalidad a los 4 días, mientras que CK-MB alcanza su pico a las 18 horas y regresa a la normalidad en 3 días después del comienzo de IAM.

El incremento de nivel de LDH-1 en IAM es un análisis sensitivo del IAM debido a su temprana elevación y prolongación media. La sensibilidad es de aproximadamente 90 %. Un patrón enzimático de LDH-1 mayor que LDH-2 tienen una sensibilidad del 75 % de IAM sospechado.(1).

Aunque también se ha reportado que una concentración por encima de 90 U/l de LDH-1 nos da una especificidad del 97.5 % de los casos positivos de IAM. El diagnóstico diferencial de LDH-1 mayor que LDH-2 liberado como respuesta del IAM incluye anemia hemolítica, anemia megaloblastica, infarto a la corteza renal, distrofia muscular y carcinoma embrional de ovario o de testículo. Esas

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

condiciones pueden ser fácilmente identificadas y podrían no ser confundidas con IAM. fig.(7). (57).

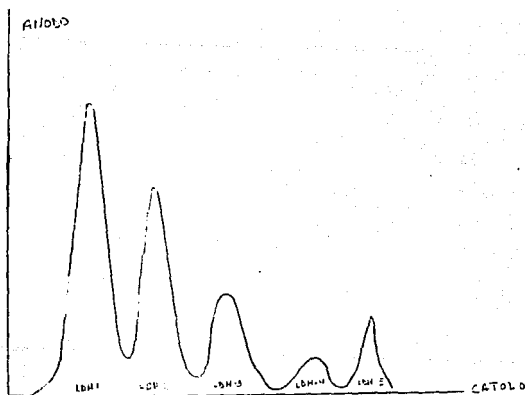


Fig. 7. Elevación de LDH-1 en proporción a LDH-2.(1).

Si el paciente con LDH-1 mayor que LDH-2 libre desarrolla un incremento de LDH-5, El paciente ha desarrollado una enfermedad congestiva del corazón con necrosis isquémica del hígado. Otras causas de daño cardiaco son provocados por contusión farmacos, agentes químicos y virales de miocarditis también como el deshecho de un trasplante cardiaco pueden resultar en un incremento en suero de LDH y LDH-1 mayor que LDH-2 libre. fig. (8).

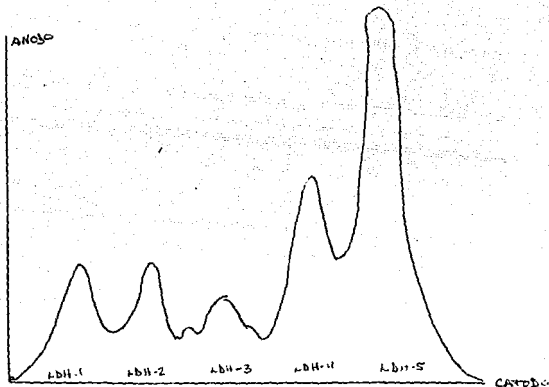


Fig.8.- Elevación de LDH-5 en daño severo al corazón.

La cirugía cardíaca, bypass en la arteria coronaria o un reemplazo de la válvula aórtica o mitral causa un trauma quirúrgico al miocardio con la resultante elevación total de LDH y LDH-1 mayor que LDH-2 libre. El incremento de LDH-1 y a la vez mayor que LDH-2 libre no es solamente causado por el trauma quirúrgico del corazón, sino además es causado por la hemólisis producida por la bomba del bypass cardiopulmonar. De la misma manera, en pacientes con trasplantes de corazón se aprecia una elevación considerable de la fracción M de LDH, al igual que en los pacientes con falla crónica del corazón, esto es debido presumiblemente como un reflejo provocado por el incremento del estrés glucolítico anaeróbico miocárdico. (58).

V.2.- LDH EN PROBLEMAS HEPATICOS

Pacientes con cirrosis hepática en raras ocasiones desarrollan un complejo IgG y LDH que migra al área catódica de la electroforesis. (59).

En pacientes con hepatocarcinoma se encuentran elevadas LDH-4 y LDH-5, existiendo un coeficiente entre ambas de 1.05 el cual nos da probabilidad del 95 % para el diagnóstico de hepatocarcinoma y del 82 % para neoplasia secundaria de hígado. (60).

La aparición de LDH-6 es un signo bioquímico de un disturbio circulatorio hepático serio anexo a la presencia de la actividad del elevada, lo cual lleva a un pobre pronostico. Al llevar a cabo un análisis bioquímico de LDH-6 se cree que esta isoenzima es alcohol deshidrogenasa. (18).

Se establece que la LDH-6 aparece como resultado de una lesión centrilobular hepática o sistémica aproximadamente el 95 % de alcohol deshidrogenasa está presente en la zona centrilobular del lóbulo hepático. Así pues esta entrará a la circulación debido a la necrosis isquémica de esta zona. La alcohol deshidrogenasa puede ser un índice de isquemia de la zona hepática centrilobular.

V.3.- LDH EN OTRAS ENFERMEDADES

Se ha demostrado también la presencia de la isoenzima de LDH-6 en problemas de arteriosclerosis cardiovascular, falla cardiaca congestiva y congestión pasiva del hígado. La aparición de LDH-6 es catódica a la banda de LDH-5 en electroforesis. Su aparición se correlaciona con un elevado índice de

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

mortalidad.(1.25). Aunque no todos los autores estudiados al respecto Meyer, ha demostrado que la aparición de LDH-6 no se asocia a un sobre diagnóstico de vida y que en efecto es una isoenzima verdadera de LDH. Esto al llevar a cabo un análisis electroforético de LDH en dos pacientes pre-eclámsicas quienes dieron a luz a dos niños normales en estado de salud satisfactorio. (38).

La aparición de otras bandas de isoenzima de LDH han sido encontradas en la enfermedad de Hodgkins que parecen ser un complejo de IgA y LDH. Una duplicación de LDH-1 fue reportada en un paciente con herofilia, el cual tuvo una hemorragia debido a un trauma ureterico tratado con ciprorecipitado.(41).

Se ha demostrado así mismo un cambio en los patrones enzimáticos, el cual fue observado hacia el tipo M con un incremento en el porcentaje de la isoenzimas LDH-4 y LDH-5, y un ligero incremento en la actividad de la LDH de todos los pacientes con enfermedades malignas. De la misma manera fue detectada una banda adicional LDH-1 EX, la cual difiere de LDH-1 en cuanto a su migración electroforética y LDH-1 EX parece estar relacionada con la frecuencia de la aparición de las enfermedades malignas independientemente de su localización.(52).

En pacientes con miopatía proximal existe una elevación de la isoenzima LDH-5, así como también la elevación de creatinincasa y la enzima convertidora de la angiotensina.(63).

Se ha reportado deficiencia total de la subunidad M de LDH en un paciente con lesiones eritemasos descamativas, a quien como dato importante sus abuelos paternos eran primos, probablemente la causa de dicha deficiencia.(43).

En pacientes con tumores oculares malignos (especialmente retinoblastoma), hay una elevación de las isoenzimas LDH-4 y LDH-5, con una disminución de las isoenzimas LDH-1 y LDH-2.(54). No siendo así en los pacientes con cataratas

seniles, en donde no existe una elevación significativa de las isoenzimas de LDH. (64).

En pacientes con hipertensión arterial y colesterol elevado se muestra un incremento en LDH, aspartato aminotransferasa y dipéptidil hidrolasa. Esto sugiere que estos cambios enzimáticos de las isoenzimas reflejan indirectamente alteraciones en el metabolismo de órganos por lo que se puede obtener una información adicional útil con respecto a las complicaciones de la hipertensión arterial. (65).

Otra enfermedad donde se aprecia una elevación de LDH es en pacientes con seninona, debido a la elevación de los rativos alifáticos, plasmal y gonadotropina coriónica humana beta. (66,67).

En alteraciones de carcinoma cérvico uterino la LDH se encuentra elevada, y la principal actividad fue observada en LDH-2 y LDH-3. Al someterse las pacientes a radioterapia se aprecia una significativa baja de las isoenzimas LDH-2 y LDH-3. La determinación de las isoenzimas de LDH en carcinoma cérvico uterino es de gran ayuda para evaluar la respuesta del tratamiento con la radioterapia y así pues, puede ser un importante parámetro para su pronóstico y desarrollo. (68,69).

A diferencia del carcinoma cérvico uterino, en donde básicamente se aprecia una elevación de las isoenzimas LDH-2 y LDH-3, en el carcinoma primario de ovario existe una elevación principalmente de las isoenzimas de LDH, LDH-4, LDH-5 y alfa-HBD, mientras que en el caso de tumor benigno de ovario no existe una elevación significativa de las mencionadas isoenzimas, estos valores de las isoenzimas de LDH en estas patologías nos es de gran ayuda para descartar una de otra. (70).

También LDH es útil para monitorear la evolución provocada por pneumocistis carinii, en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida,

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

siendo más útil que la determinación del gradiente de oxígeno alveolar-arterial y la albúmina sérica. La resolución clínica de una cistitis provocada por pneumocistis carinii se asocia con una declinación de la actividad de LDH. (71).

Es importante señalar que efectivamente LDH total se eleva en pacientes con sida y en alguna de sus complicaciones como pneumonitis, sin embargo puede ser que algún paciente con SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida) pueda llegar a tener valores normales de LDH. (72).

En un estudio con 33 pacientes con SIDA ó pacientes adultos con SIDA o con complicaciones de ella mostraron valores normales de la actividad de LDH. A diferencia de algunos pacientes con SIDA que llegan alcanzar valores de 2,415 U/L de LDH. (3).

En pacientes que presentan proteinosis alveolar de pulmones (enfermedad poco común, caracterizada por la acumulación del material lipoproteico en el espacio alveolar), ha sido notado una elevación de LDH sérica total, así como de sus isoenzimas. Si se realizan un lavado alveolar los niveles tanto de LDH-1, LDH-2, LDH-3, LDH-4, LDH-5 disminuyen en relación con sus valores antes del lavado. No existe una correlación directa entre la concentración sérica de LDH y la concentración sérica de LDH después del lavado. (73).

Cuando las isoenzimas de LDH se determinan en citología urinaria, es evidente que si se encuentran incrementadas, se trata de diagnóstico de cáncer de tracto urinario; ya que en estudios de papanicolaou aunque los resultados sean falsos negativos, la fracción H de LDH sugiere un cáncer de vías urinarias. Por lo que ayuda a una temprana detección y para el seguimiento de este padecimiento. (74).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VI.- CASOS CLINICOS RELACIONADOS CON LA ELEVACION Y DECREMENTO DE LDH

VI.1.- ETIOLOGIA DE LA ELEVACION DE LDH

Desde que se ubica a LDH como una enzima, no es sorprendente que en el suero LDH se eleve en una gran variedad de afecciones. Las condiciones asociadas con elevados niveles de LDH son traumas, anemia megaloblástica debida a anemia perniciosa o deficiencia de Acido fólico y enfermedades malignas avanzadas como linfoma o leucemia.(1).

Algunos autores sugieren que los cambios de las isoenzimas tipo M y tipo H de LDH no son específicas para algún tipo de tumores malignos. Sostienen que el incremento de la isoenzimas tipo M y tipo H pueden ser relacionadas con la proliferación de las células en general.(75).

Cáncer de ovario y testículo producen LDH-H con una LDH-H que LDH-2 libre. Leucemia y linfoma producen niveles elevados en suero de LDH-2 y LDH-3. Otras enfermedades malignas producen elevados niveles séricos de LDH-3, LDH-4 y LDH-5. Las células cancerígenas continúan su proliferación bajo tensiones de oxígeno sustancialmente bajas que las que se aprecian en los tejidos normales.(70,76). Cáncer de pulmón y páncreas e infarto pulmonar producen la elevación de LDH-3. Metástasis maligna de hígado produce un prominente incremento de LDH en suero, el cual es una combinación de LDH del neoplasma y LDH-4 y LDH-5 de hígado. Un trauma en el músculo esquelético y las miopatías destructivas causan una elevación prominente de LDH en suero, especialmente de LDH-5. en la fase tardía de la miopatía los niveles séricos de LDH descienden.

En distrofia muscular, LDH sérica se eleva rápidamente y posteriormente

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LDH-5 se incrementa. Cáncer de próstata y hapatona causan elevación sérica de LDH-5. Elevado nivel sérico de la enfermedad maligna avanzada declinará con la respuesta al tratamiento o a su remisión. Los niveles totales de LDH en ciertas enfermedades malignas puede ser utilizado para correlacionar con el índice de supervivencia y respuesta a la quimioterapia. Esas enfermedades malignas son el linfoma de Burkitts, sarcoma de ewings, linfoma de Hodgkins, así como una pobre diferenciación de linfoma linfotítico. Los niveles séricos elevados de LDH fueron derivados de las células malignas y los tejidos de los cuales tienen una metástasis maligna. (78).

Otras 2 causas de la elevación sérica de LDH-1 con una consistencia de LDH-1 mayor a LDH-2 libre podrían ser consideradas, ellas son: la necrosis aguda de la corteza renal y la fase avanzada de metástasis de melanoma maligno. Algunos cambios de las isoenzimas de LDH en daños renales son evidentes para hacer la diferenciación de ciertas enfermedades. (79).

La LDH se incrementa en los atletas por el estrés físico agudo, especialmente después de un entrenamiento o pruebas de una carrera o maratón. (45).

La determinación de LDH en varios fluidos biológicos es importante, meningitis bacteriana puede causar un incremento total de LDH en el fluido cerebroespinal con un incremento de LDH presumiblemente de neutrófilos.

En tumores metastásicos existe una elevación predominante de LDH-5 en fluido cerebroespinal, mientras que un tumor primario de cerebro experimenta la elevación de todas las fracciones de LDH. Las encefalitis virales muestran un incremento en las primeras 3 isoenzimas y la meningitis bacteriana en las últimas dos. (80).

Una efusión pleural, peritoneal o pericardial es un estudio asociado con condiciones o causas malignas de una elevación de LDH en los fluidos. La LDH

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

es derivada de los neutrofilos, linfocitos, eritrocitos y celulas malignas. Un exudado tiene una proporción de efusión sérica mayor de 0.6, mientras que un trasudado tiene una proporción de efusión menor de 0.6. Las efusiones no son polos estancados. Estan en actividad, si bien variables, transfieren materiales. La albúmina es trasferida aproximadamente 3 veces más rápido que la globulina alfa 1 y globulina alfa 2 son más rápidas que las fracciones de globulina gamma.

Para teoría precedente y razones mencionadas, las efusiones malignas posean actividad de LDH mayor que en el suero. Los fluidos son enriquecidos por la actividad de las celulas neoplasicas y desde ellas se engendra LDH que se asocia con la fracción gamma globulina, el equilibrio del fluido sérico es retardado. La actividad enzimática en efusiones benignas baja relativamente la rápida transierencia debido a su relación con la alfa globulina.

VI.2.- DECREMENTO DE LDH

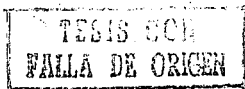
Un decremento de LDH ocurre en pacientes con deficiencia completa hereditaria de la LDH subunidadH o completa deficiencia de Subunidad H sido reportados. (81,82). La electroforesis sérica muestra unicamente la banda de LDH-5. también se ha reportado la deficiencia hereditaria de LDH de la Subunidad M. (18,45).

Existen estudios en donde se demuestra que puede existir deficiencia tanto de la subunidad H, como de la subunidad M. Un caso de deficiencia completa de la subunidad H fue reportado por primera vez en 1971, y por deficiencia total

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

de la subunidad M fue reportado en 1980. (83,84). Su detección exacta es muy importante debido al potencial de mala interpretación de LDH sérico llevado a cabo por los laboratorios clínicos. Se han investigado esas deficiencias de las subunidades de LDH. Se realizó un estudio con 40 000 pacientes del hospital universitario de Hananatsu, midiendo LDH sérica desde 1973 a 1980, y tomando en cuenta valores de referencia de 170 a 240 U/L (correspondiendo a un valor menos 3 desviaciones estándar). A los portadores heterocigotos con deficiencias de subunidad de LDH se les denominaron sus eritrocitos. La proporción de la subunidad H/M de los eritrocitos fue calculada. El criterio usado para la detección de los portadores fueron valores de: menores de 2.3 para pacientes con deficiencia de la subunidad H y mayores de 3.5 para los pacientes con deficiencia de la subunidad M. Es decir que la proporción entre H/M debiera estar comprendida entre valores de 2.4 a 3.4 para considerarse dentro del rango normal. (85).

En los resultados obtenidos se encontraron 26 pacientes con deficiencia de la subunidad H y 6 pacientes con la subunidad M; siendo más frecuente la deficiencia de la subunidad H. Así pues, la frecuencia de pacientes con deficiencia de las subunidades H y M fueron de 20.63 % y 4.76 % respectivamente (se analizaron 126 casos). El total de número de pacientes en donde se analizó la actividad total de LDH fueron 40 000. De esta manera, la frecuencia dentro de total de la población que se calcula es para deficiencia de la subunidad H = 0.065 % y deficiencia de la subunidad M = 0.015 %. En el análisis de rutina de la actividad de LDH, un papel diagnóstico es asignado principalmente al incremento en la actividad; sin embargo existen algunos estados anormales en donde se puede llevar a cabo un decremento de la actividad de LDH sérica, así como la deficiencia de alguna subunidad de LDH, la variación



de la subunidad de LDH en la presencia de inhibidores de LDH. En este estudio solamente unos pocos de los pacientes con alguna deficiencia de la subunidad de LDH mostraron una baja actividad de LDH. Esto resulta como base de los resultados de los análisis de los pacientes con deficiencias de la subunidad H o de la subunidad M. Este punto es importante para detectar a los pacientes con deficiencias de la subunidad de LDH de los niveles de actividad de LDH sérica. Si los pacientes tienen una deficiencia hereditaria de alguna subunidad, los niveles séricos de LDH no pueden expresar totalmente el estado de varias enfermedades. El análisis de las isoenzimas y el cálculo de la proporción entre LDH-1 y LDH-2 pueden ayudar a la detección de la deficiencia de alguna subunidad de LDH. La herramienta más segura para la detección del estado del paciente de la deficiencia de la subunidad H o M es proporción de eritrocito H/M y la inmunoelectroforesis.

Tan como este como otros estudios previos muestran que no hay variación de la subunidad H, la cual es capaz de formar un heterotetramero con la subunidad H normal en la deficiencia de la subunidad M, de otra manera parece haber algunas variaciones en la deficiencia de la subunidad H. En un caso, subunidades variantes fueron encontradas a través de reacción de 2 anticuerpos anti subunidad-H, y en otro caso no hubo variaciones en las subunidades las cuales formaron un heterotetramero con una subunidad M normal. Algunos autores han reportado la existencia de LDH humano variante, llamada LDHb (UA-1). (86).

La variante es una proteína sencilla electroforética, que es enzimáticamente inactiva. todas las combinaciones tetraméricas de actividad mas subunidades inactivas, incluyendo ya sea una subunidad M o H activa mas tres subunidades inactivas de H, poseen actividad enzimática. Los sujetos heterocigotos con deficiencia de la subunidad H examinados podrian tener una variante hereditaria similar a la variante de B-UA-1 de causa, los fenotipos

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

de las subunidades de LDH y el código de DNA de las subunidades pueden ser diferentes y puede variar. La naturaleza de esas variaciones puede ser clasificada en secuencias de DNA de cada caso variante a ser analizado.

Las deficiencias de las subunidades pueden ser fácilmente causa de mal diagnóstico por la liberación reducida de LDH de los órganos afectados en varios estados de daño. Consecuentemente es de importancia reconocer la deficiencia de las subunidades de LDH como un potencial de mal interpretación de desorden hereditario y un importante problema tanto para el laboratorio como para la medicina clínica. Así como desordenes hereditarios pueden ser registrados como posibles mal conceptos individuales para evitar errores en el diagnóstico de laboratorio. (37).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISCUSION

Una de las finalidades de llevar a cabo un estudio de la enzima LDH, es para ver en que casos es importante su determinación y en que casos no.

Podemos ver que la enzima LDH se eleva en una gran variedad de afecciones (enfermedades hepáticas, cardíacas, malignas, traumáticas, etc). Pero en todas estas patologías no se requiere la determinación de LDH total ni de sus isoenzimas, ya que se cuenta con otros estudios más específicos para diagnosticar cada patología, esto conlleva a que si se realizan los estudios apropiados, se minorizará el trabajo de laboratorio, y el gasto de reactivo.

Esto no quiere decir que no sea necesaria la determinación de LDH, sino que hay casos específicos en los que no hay duda que nos ayuda para un pronóstico y monitoreo de la enfermedad, como por ejemplo en alteraciones de carcinoma cérvico uterino donde la LDH-2, y LDH-3, se encuentran elevadas, entonces si el paciente se somete a radioterapia se aprecia una significativa baja de las isoenzimas LDH-2 y LDH-3, por lo tanto nos ayuda para evaluar la respuesta del tratamiento con la radioterapia y así pues puede ser importante parámetro para su pronóstico y desarrollo.(68, 69). Así mismo en hemólisis, y anemia hemolítica la LDH se eleva grandemente.

También es importante señalar que cuando se determinan las isoenzimas de LDH en citología urinaria y se observa incremento de LDH-4 y LDH-5, es muy probable que se trate de un cáncer de tracto urinario, ya que aunque en los estudios de papanicolaó, aunque se reporten falsos negativos, ésta determinación de las isoenzimas nos ayudará a corroborar o descartar los resultados de la citología urinaria. Además de que el continuo monitoreo de estas isoenzimas nos ayudará a ver la evolución del paciente al tratamiento.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VIII. - CONCLUSIONES

Las razones de los cambios de los niveles enzimáticos de LDH en enfermedades del miocardio, hepáticas y otras enfermedades es sobradamente entendido. En la actualidad hay poco conocimiento acerca de las isoenzimas de LDH, por lo que no se les ha sabido explotar para la evaluación, diagnóstico y pronóstico de una gran variedad de patologías, ya que en general los médicos utilizan LDH total casi como de rutina y no llevan a cabo el seguimiento. Esto es un gran problema, ya que es evidente el desconocimiento de los médicos acerca de la utilidad de las isoenzimas de LDH, se debe entender con mayor precisión las relaciones existentes entre las distintas isoenzimas de LDH y los factores que influyen las concentraciones de las enzimas séricas en la salud y la enfermedad.

Las bases están dadas, y hasta la fecha no se ha sabido explotar el potencial de las isoenzimas de LDH, para monitorear el curso de la enfermedad, tratamiento y pronóstico.

Si se comprendiera mejor su utilidad se dejaría de utilizar la LDH total como rutina. Como consecuencia los costos tan elevados de esta enzima y de sus isoenzimas se abaratarían considerablemente y se tendría un mejor seguimiento de la enfermedad.

No hay duda de la utilidad clínica de las isoenzimas séricas de LDH en el diagnóstico, monitoreo y pronóstico de infarto agudo al miocardio, cirrosis hepática, tumores malignos y otras enfermedades; pero hay que darnos cuenta que también existen otras pruebas de laboratorio que nos afirman estas enfermedades que son de menor costo y fáciles de realizar, por el lab. clínico.

Por lo que hay que utilizar más a las isoenzimas de LDH, en las patologías que requieran de un monitoreo de la enfermedad y no haya otras pruebas más sencillas.



VIX.-REFERENCIAS

- 1.- Golf, F.A.L. L.; Lactate dehidrogenase isoenzymes in myocardial diase. Clin. in lab. med; 1989 dec; 9(4): 655-65.
- 2.- Tihanyi K; Fontanelli A; Talbot; and Thirion J.P. Soybean L-(+) lactate dehidrogenases; Purification, characterization and resolution of subunit structure. Archives of biochemistry and biophysics. 1989; 274(2): 626-632.
- 3.- Silverman Ba; Rubinstein n. Serum lactate dehidrogenase levels in adults and children with acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and AIDS-RELATED complex; Possible indicator of B cell lymphoproliferation and disease activity. The Am. J. Of Med; 1985 May; 78: 718-726.
- 4.- Valle, B.L.; Nacher, W.E. Lactate dehidrogenase characteristics. Amer. Chem. Soc.; 1956: 78: 1771.
- 5.- Nicholas John Pappas Jr. Theoretical aspects of enzymes in diagnosis. Clin. in lab. med; 1989 Oct; 9(4): 595-628.
- 6.- Hill B.R. and Levi, C. Cancer res. 11, 513- 515 (1954)
- 7.- Vesel E.S.; Serum lactate dehidrogenase and his fraction proteinann. N.Y. Acad. sci; 1961, 94: 877-879.
- 8.- Wroblewski, F and Gregory, K.F. Lactate dehidrogenase proc. 4th int. congress. Clin. chem. 1960; 62-80.
- 9.- Wroblewski, F and Gregory, K.F. ann N.Y. acad. sci. 1961; 94:912-32.
- 10.- Mabn Joo; Kim and Whitesides George M. Lactate dehidrogenase substrate specificity and use a catalyst in the synthesis of hochiral 2-hidroxy acids. J. am. chem. soc. 1968; 110: 2959-64.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 11.- Ievan K.M; Goldberg E. Properties of human testis-specific lactate dehydrogenase expressed from escherichia coli. *Biochem. J*; 1991 Feb 273(Pt 3): 587-92.
- 12.- Cahn R.D.; Kaplan N.O; Levine L; and Zwilling E. Nature and development of lactic dehydrogenase. *Science* 1962; 136:962
- 13.- Kaplan N.O; Regulatory effects of enzyme action in mechanism of action of steroid hormones. Pergamon press, oxford, England. 1961:247-255.
- 14.- Everse Johann; Reich R; and J.; Nathan o Kaplan; and J. Donald Finn. New instrument for rapid determination of activities of lactate dehydrogenase isoenzymes. *Clin. chem*; 1973; 19(9): 1217-1221.
- 15.- Cabello N; Lujan G; Rywin Am. Significance of a sixth lactate dehydrogenase isoenzyme (LD-6). *Am. J. Clin. Pathol*; 1980 73:253.
- 16.- Vladitiu A.O. Cathodic lactate dehydrogenase (LD-6): a sign of ominous prognosis?. *Arch. Pathol. Lab. Med*; 1983; 107: 612.
- 17.- R. Roberts. Biozytic diagnosis of acute myocardial infarction. *Chest*; 1968; 73: 3.
- 18.- Kato S; Shii H; Kano S. Evidence that lactate dehydrogenase isoenzyme 6 is, in fact, alcohol dehydrogenase. *Clin. Chem*; 1984; 30: 1585-88.
- 19.- Kbowitz F. and Ott P. *Biochem*; 1991; 2: 314; 94-11 .
- 20.- Davidenko L.M; Zaichenko I.V; Kononenko, V.A. Lactate dehydrogenase activity and its isoenzyme spectrum in the human pancreas in the prenatal period. *Fiziol. Z.H.* 1989; J1-6g; 35(4): 106-9.
- 21.- Zapadlo M; Zeman J. Lactate dehydrogenase in the cerebrospinal fluid in 57 hipoxic neonates. *Cesk. Pediatr*; 1990 Jul; 45(7): 397-8.
- 22.- Moses G.C; Henderson A. R. Biological variance of total lactate dehydrogenase and its isoenzymes in human serum. *Clin. Chem*; 1981; 30(11): 1737-41.

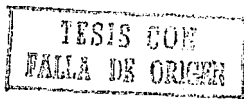


- 23.- Haggblom L; Terwilliger R.C; Terwilliger N.E. CHANGES IN MYOGLOBIN and lactate dehydrogenase in muscle tissues of diving birds, the Pigeon guillemot, during maturation. *Comp. biochem. physiol. D.* 1988; 91(2): 273-277.
- 24.- Carbajalk H.F; Pucket C D; Adcock E. W; Krudy G.A. The relationship of lactic dehydrogenase to epithelia cells in the rine of normal neonates. *Clin. pediater. phila;* 1968 Aug; 27(8): 376-80
- 25.- Letchum C.H; Robinson G.A; Hall L. M; Grizzle J.E; MacLaren N. K; Rilev W. J; Frost C. Clinical significance and partial biochemical Characterization of lactate dehydrogenase isoenzyme 6. *Clin. chem;* 1984; 30(1): 46-49.
- 26.- Skibba J.L; Stadnicka A; Kalbfeleisch J.H; Hyperlemic liver toxicity: a role for oxidative stress. *J. surg. oncol.* 1989 Oct; 42(2):105-12.
- 27.- Waddington M.D. and Meany J.E. The inhibition of lactate dehydrogenase by hydrated pyruvate. *Arch. of biochem. and biophys;* 1981; 211(1): 447-53.
- 28.- Hayashi M; Tani H; Horiguchi M; Hashimoto K. Cytotoxic effects of acrylamide and its related compounds assessed by protein content, LDH activity and cumulative glucose consumption of neuron-rich cultures in a chemically defined medim. *Arch. toxicol.* 1989; 63(4):306-13.
- 29.- Decker T; Lohmann Matthes M.L; A quick and simple methodo for the quantitation of lactate dehydrogenase release in measurements od cellular cytotoxicity and tumor necrosis factor (TNF) activity. *J. immunol. methods.* 1983. 115(1): 61-69.
- 30.- Shina R; Condrea E; Inhibition of lactate dehydrogenase by an EDTA Ca²⁺ complex. *Clin. chim. acta;* 1990; 187:231-36.
- 31.- Hannemann J.; Baumann K; Inhibition of lactate dehydrogenase by cisplatin and other platinum-compounds; Leakage of LDH is not a suitable method to measure platinum-compound-induced kidney cell damage in vitro. *Commun. chem. pathol. pharmacol;* 1988 Jun; 60(3):371-9.
- 32.- Balklara A. Effects of some antidepressant drugs on the activity of glial cell enzymes in culture. *Eur. J. Pharmacol.* 1989; 161(2-3): 3:231-235.

- 33.- Kuttu R. K; Singh Y; Santostasi G; Krishna G. Maitotoxin induced liver cell ATP following influx of calcium. Toxicol. appl. pharmacol. 1989 Oct; 101(1):1-10.
- 34.- Sriivastava A; Katiyar S. Antibodies against alcohol dehydrogenase and lactate dehydrogenase inhibit the activities of other unrelated NADH-requiring dehydrogenases. Biochem. Int. 1988; 17(4): 611-615.
- 35.- Edwards V; West L; Van Heyningen V; Cowell J; Goldberg E. Regional localization of the sperm-specific lactate dehydrogenase, LDH, gene on human chromosome 11. Ann. Hum. Genet. 1987 Jul; 53(3): 215-219.
- 36.- Edward S. Kline; Richard J. Bravitt; J.E. Leach; Stephen P. Spaulhour; Edwin J. Higgins; Kenneth S. Rogers; Steven S. Tinsley and Michael G. Waters. Localization of L-lactate dehydrogenase in mitochondria. Archives of biochemistry and biophysics. 1986; 216(2): 673-680.
- 37.- Stau-H; Ip Yk. Activities of enzymes associated with phosphoenolpyruvate metabolism in the mudskippers, *Boleophthalmus boddarti* and *Periophthalmodon schlosseri*. Comp. biochem. physiol. 1987; 88B(1): 119-123.
- 38.- Beyer C; Hofland Mj. Lactate dehydrogenase isoenzyme 6 in serum of two patients with severe pre-eclampsia. Clin. Chem. 1970; 16(2): 411-412.
- 39.- Dahn Rd; Kaplan N; Levine L; Zwilling E. Nature and development of lactic dehydrogenase. Science 1962; 136: 962-969.
- 40.- Everse J; Kaplan N. Mechanisms of action and biological functions of various dehydrogenase isozymes. in: Market cl, ed isoenzymes II, physiological functions, N.Y. academic press, 1975: 29-43.
- 41.- Bishop Sp; Altschuld R.a. Increased glycolytic metabolism in cardiac hypertrophy and congestive failure. Am. J. physiol. 1970; 218: 153-159.
- 42.- Lin L; Sylven C; Sotonyi E; Kauser L; Jansson E. Lactate dehydrogenase and its isoenzyme activities in different parts of the normal human heart. Cardiovasc. Res. 1989; 23:601-606.



- 43.- Takayasu S; Fujiwara S; Waki T. Hereditary lactate dehydrogenase m-subunit deficiency: lactate dehydrogenase activity in skin lesions and hair follicles. *J. am. acad. dermatol.*; 1991 Feb; 24(2 PT 2): 339-42.
- 44.- Maekawa M; Fanno T; Sudo K. Myoglobinuria due to enzyme abnormalities in glycolytic pathway-especially lactate dehydrogenase M subunit deficiency. *Binsho. byori*; 1991 Feb; 39(2):123-32.
- 45.- Wolf P; Lott J; Nutti G. Changes in serum enzymes lactate and haptoglobin following acute physical stress in international class athletes. *Clin biochem*; 1987; 10:73.
- 46.- Plaquemann P.g.w; Gregory K.F; and Wroblewski F. DIE elektrophoretisch trennbaren lactat-dehydrogenasen des sagetieres. *Biochem*. 1961: 371-377.
- 47.- Wechsung E.D. and Pleiderer G. Biochemische untersuchungen an kristallinen isoenzymen der lactat dehydrogenase aus menschlichen organen. *Biochem Z*; 1963; 336-345.
- 48.- Nathan D; Kaplan and J. EVERSE. Regulatory characteristics of lactate dehydrogenase. *J. enzymol.* 1974; 1:321-336.
- 49.- Wang C. Lactate dehydrogenase. 1977 *ELR. J. BIOCHEM*; 73: 669-74.
- 50.- Ha Ebn; Gie Zhong; J. Burdon and Robert Callender. hydrogen bonding and reaction specificity in lactate dehydrogenase studied by raman spectroscopy. *J. phys. chem*; 1989; 93(12): 4910-13.
- 51.- Tabata M; Totani M; Murachi T. Determinations of lactate and lactate dehydrogenase activity in serum with the flow injection analysis system involving immobilized enzyme column and chemiluminescence. *Anal. biochem*; 1991 Feb 15; 193(1): 112-7.
- 52.- Latner A.L; and Shillen A.W. Heat stability index of lactate dehydrogenase in cardiac infarction. *Proc. soc. clin biochem*; 1963;2:100.
- 53.- Emery A.E. The determination of lactate dehydrogenase isoenzymes in normal human muscle and other tissues. *Biochem J*; 1967; 105: 589.



- 34.- Singh R; Kaurya Op; Shukla P; Ramdutt S. Lactate dehydrogenase (LDH) isoenzyme patterns in ocular neoplasia. Indian J. ophthol.; 1971 Apr-Jun; 3(2):44-7.
- 35.- Hackworth Ra; Sorenson Sg; Fairbank Pj; Barry Jg; Mantove Rl; Rothbard Rl; Anderson JI. Effect of reperfusion on electrocardiographic and enzymatic infarct size: results of a randomized multicenter study of intravenous and intraperitoneal streptokinase-activator complex (APSAC) versus intracoronary streptokinase in acute myocardial infarction. Am Heart J; 1988 Oct; 116(4): 903-14.
- 36.- Lederer W; Gerstbrun HJ. How best to diagnose heart disease from enzyme measurements? Clin. Chem; 1975; 21(9): 1347.
- 37.- Rosenfeld I, DeFronzo RA; Weinman I; Glick J; Spelling F; Agmon J. The efficiency of lactate dehydrogenase isoenzyme determination for the diagnosis of acute myocardial infarction. Arch. Pathol. Lab. Med; 1988 Sep; 112(9): 895-7.
- 38.- Lin L; Sylve S; Astrom H; Liska J; Ljungquist A; Jansson E. Myocardial lactate dehydrogenase and its isoenzyme activities in transplanted human hearts. Scand J. Urolog. Card. Surg; 1991; 25(1): 51-5.
39. Koenigova J; Koenig W. Lactate dehydrogenase isoenzyme patterns of plasma in patients with cirrhosis of the liver. Clin. Chem. Acta; 1967; 18: 313.
- 40.- Castaldo G; Orlandi G; Cimato L; Topi M; Edilio G; Salvatore F; Sacchetti L. Serum lactate dehydrogenase isoenzyme 4/5 ratio discriminates between hepatocarcinoma and secondary liver neoplasia. Clin. Chem. 1991 Aug; 37(8): 1419-23.
- 41.- Forbes Cd; King I; Menikol Gp. Duplication of LD-1 in a patient receiving multiple transfusion. Clin. Chem; 1971; 17:948.
- 42.- Giannolaki Ee; Kalpaxis D1; Tentas C. Lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in sera of patients with malignant diseases. Clin. Chem. 1989 Mar; 35(3): 396-399.
- 43.- Henze T; Bardosi A; Reichmann Hr. Familial myopathy with elevated serum angiotensin-converting enzyme, creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzyme 5. J. Neurol; 1991 Aug; 228(3): 265-270.



- 64.- Nagpal R.; Singh Gp; Ahluwalia Bk. Total lactate dehydrogenase, and its isoenzyme patterns in lens aqueous humor, and serum in cases of senile cataract. *Acta Ophthalmol. (Copenh)*; 1991 Feb; 69(1): 57-60.
- 65.- Faries R; Frille J; Gauth. Jn; Fagenknecht C. Isoenzyme (lactate dehydrogenase, aspartate aminotransferase) and dipeptidyl peptidase IV activity changes in blood plasma likely indicative of organ involvement due to arterial hypertension. *Cor. vasa*; 1991; 33(3): 218-26.
- 66.- Miro A; Nielsen Oa; Urdan W; Sturgeson J; Gaspardowicz M; Mallin A. An assessment of combined tumour markers in patients with seminoma: placental alkaline phosphatase (plap), lactate dehydrogenase (LD) and beta human chorionic gonadotrophin (beta HCG). *Br. J. Cancer*; 1991 Dec; 64(7): 137-42.
- 67.- Khanolkar M; Siroat A; Deshpande Vh; Kanat M. Serum Lactate dehydrogenase, alpha hydroxy urate dehydrogenase and ratio of Alpha hydroxyurate dehydrogenase to lactate dehydrogenase in testicular tumours. *Indian J. Cancer*; 1990 Dec; 27(4): 29-7.
- 68.- Kumar M; Sude A; Gupta S. Serum lactic dehydrogenase isoenzymes alteration in carcinoma cervix uteri. *Int J. gynaeco. obstet*; 1988 Aug; 27(1): 91-3.
- 69.- Yonis J; Zeevi D; Hadani P; Anteby S. Serum lactic dehydrogenase and primary carcinoma of the ovary. *Gynecol. obstet. invest*; 1989; 28(1): 47-50.
- 70.- Mikuchi Y; Hisano A; Imai E; Hirata J; Nagata I. Total lactate dehydrogenase and its isoenzymes in serum from patients with primary carcinoma of the ovary. *Gynecol. obstet. invest*; 1991; 31(3): 161-5.
- 71.- Benson C; Spear; Hibes D; Pottage Jc Jr; Kessler Ha. Combined apache II score and serum lactate dehydrogenase as predictors of in-hospital mortality caused by first episode pneumocystis carinii pneumonia in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am. rev. respir. dis*; 1991 Aug; 144(2): 319-23.
- 72.- Kagawa Ft; Kirsch Cm; Yanokida G; Levine Ml. Serum lactate dehydrogenase activity in patients with AIDS and pneumocystis carinii pneumonia: and adjunct to diagnosis. *Chest*. 1988. 95(5): 1031-1033.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 73.- Em. Hoffman; Em. ROGERS. Serum and lavage lactate dehydrogenase isoenzymes in pulmonary alveolar proteinosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1971 Jan; 143(1): 42-6.
74. - Nishikawa A; Tanaka T; Takeuchi T; Fujihara S; Mori H. The diagnostic significance of lactate dehydrogenase isoenzymes in urinary cytology. *Br. J. Cancer.* 1971 May; 63(5): 319-21.
- 75.- Fan Lin; Xu Jn; Isaacson Fg. Cellular H- and H+ type lactate dehydrogenase (LDH) isoenzymes and tumor diagnosis— an immunohistochemical assessment. *J. Pathol.* 1971 Jan; 153(1): 53-60.
- 76.- Anderson Gr; Parkas Bk. The major anoxic stress response protein F54 is a distinct lactate dehydrogenase. *Biochemistry.* 1978 Mar; 22: 27(6): 2187-90.
- 77.- Sagan U; Feld L; Evans Wk; Warr S; Shepherd Fa; Payne D; Pringle J; Yeoh J; Deboar G; Malkin A. The prognostic significance of pretreatment serum lactate dehydrogenase in patients with small cell lung cancer. *J. CLIN. ONCOL.* 1991 JUN; 9(6): 950-51.
- 78.- Schilling Roberto F; Nk Barbara; Jc. John. Prognostic value of serum lactic dehydrogenase level in Hodgkin's disease. *J. Lab. clin. med.* 1982 Mar; 99(3): 362-7.
- 79.- Kang Sk; Ha Gy; Cho Kh; Park Sk; Kim Uh. Changes of lactate dehydrogenase and its isozyme activity in renal diseases. *Nephron.* 1991; 57(1): 55-9.
- 80.- Chatterley S; Sun T; Lien Y. Diagnostic value of lactate Dehydrogenase isoenzymes in cerebrospinal fluid. *J. clin lab. anal.*; 1991; 55(3): 168-74.
- 81.- Joukyu R; Mizuno S; Amakawa T. Hereditary complete deficiency of lactate dehydrogenase H subunit. *Clin chem.* 1989; 35: 687.
- 82.- Kitamura M; Iijima N; Hashimoto F. Hereditary deficiency of H subunit of lactate dehydrogenase. *Clin. chim. acta.* 1971; 34:419.
- 83.- Kitamura M; Iijima N; Hashimoto F; Hiratsuka A. Hereditary deficiency of subunit H of lactate dehydrogenase. *Clin. chim. acta.* 1971; 34: 419-23.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 84.- Kanno T; Sudo K; Takeuchi. Hereditary deficiency of lactate dehydrogenase. Clin. Chim. acta. 1980; 108: 67-76.
- 85.- Maekawa M; Kanda S; Sudo K; Kanno T. Estimation of the gene frequency of lactate dehydrogenase subunit deficiencies. Am. J. Hum. Genet; 1984; 35: 1204-14.
- 86.- Tanis Rj; Neel Jv; Arous Rt. Two more oligomorphs of America Indian tribes: LDH B Gua-1 and ACP 1B Ora-1. In Panama. Am. J. Hum. Genet; 1977; 29: 419-30.
- 87.- Masato Maekawa and Takashi Kanno. Laboratory and clinical features of lactate dehydrogenase subunit deficiencies. Clin. Chim. acta; 1984; 135: 29
- 88.- Kung J., Enciclopedia clinica practica. Edc. Activa. 1 edicion, España, 1989; B-44.
- 89.- Z. Klin, Deutsche gesellschaft fuer klinische chemie, Chem. Klin; Biochem; 1970; 8:658.
- 90.- Z. Klin, Deutsche gesellschaft fuer klinische chemie, Chem. Klin; Biochem; 1971; 9:464.
- 91.- Z. Klin, Deutsche gesellschaft fuer klinische chemie, Chem. Klin; Biochem; 1972; 10:182.
- 92.- Orten Neahas, Bioquímica humana, Edit. medica panamericana; 1984; 100 - 124.
- 93.- Lehninger A.L., Biochemistry, 2a ed., Edit. Wort publis hart inc. 1979; 199, 232 - 234.
- 94.- Bhagavan N.V., Bioquímica, 2a ed., Edit. Interamericana, 1984; 118 - 124.
- 95.- Stryer L., Bioquímica, 3a ed., Edit. Reverte S.A. 1984; II 446-449.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN