

Estudio de las isoenzimas de la lactatodeshidrogenasa en pacientes con hepatopatías

Por los Dres.:

MYRNA QUINTERO DIAZ,¹ STOIL BORISOV ZHEREV²

Quintero Díaz, M. et al. *Estudio de las isoenzimas de la lactatodeshidrogenasa en pacientes con hepatopatías*. Rev Cub Med 16: 2, 1977.

Se estudió el comportamiento de las isoenzimas lactatodeshidrogenasa (LDH) en el suero de 126 pacientes con distintas hepatopatías (hepatitis aguda, hepatitis crónica persistente, hepatitis crónica agresiva, cirrosis, esteatosis e hígado tumoral). El diagnóstico fue establecido por laparoscopia, con biopsia hepática en todos los casos, excepto en las cirrosis hepáticas, en las cuales la impresión laporoscópica es tan convincente que se prescinde de la biopsia. En los casos de metástasis hepáticas, la necropsia dio el diagnóstico final sobre el tumor primitivo. En las hepatitis agudas se comprobó aumento de la isoenzima LDH₅ en la fase comenzante activa. En las hepatitis crónicas persistente y agresiva, solamente se elevó esta isoenzima en los casos descompensados clínica y humoralmente. No se detectaron diferencias isoenzimológicas entre el brote agudo de las hepatitis crónicas y las hepatitis agudas. En las cirrosis hepáticas igualmente se comprobó que las descompensadas, principalmente con íctero, fueron las únicas que elevaron la fracción LDH₅. En general, el aumento de esta isoenzima tuvo correlación con la transaminasa glutámico-pirúvica, aunque se normalizaba antes que ésta. En las esteatosis no se encontraron alteraciones de la LDH. Se encontró un franco aumento de esta fracción en dos de los tres carcinomas primarios de hígado, ambos unicéntricos, en oposición al otro caso de carcinoma, que a pesar de ser difuso no alteró la LDH. El diagnóstico laparoscópico fue de fundamental importancia en todos los tipos de hepatopatías, pues sólo hubo una discrepancia con el diagnóstico histológico en cinco casos (4%).

INTRODUCCION

La lactatodeshidrogenasa (LDH) es una enzima citoplasmática que cataliza la transformación del ácido pirúvico en ácido láctico.

Wiem¹ utilizando gel de agar como soporte, logró separar cinco fracciones por electroforesis, para las cuales Markert y Móller,² en 1959, propusieron el nombre de isoenzimas.

Cada fracción isoenzimática es un tetrámero compuesto de cuatro unidades pilipeptídicas o monómeros.^{3,4} Estos monómeros se denominan A o H y B o M, y de sus posibles combinaciones se obtienen las cinco isoenzimas. En realidad, esto es más complejo aún, pues usando distintos soportes electroforéticos, como almidón y gel de poliacrilamida, se han detectado subbandas para las diferentes isoenzimas.^{5,8} La formación

de las isoenzimas son controladas genéticamente, de modo que dos genes controlan la síntesis de las cinco isoenzimas.⁷

Se ha visto que los diversos tejidos tienen lo que se llama un patrón isoenzimático, lo cual hace presumir una estrecha relación entre el tipo de isoenzima y determinados procesos biológicos, o sea, que el metabolismo particular de cada órgano condiciona la distribución isoenzimática del tejido en función, lo cual depende también de la afinidad de las isoenzimas por su sustrato. Basado en esto, *Kaplan*⁸ formuló su hipótesis, según la cual en los tejidos con alto consumo de oxígeno y poca resistencia a la anoxia, por ejemplo, cerebro, músculo cardíaco, riñón, etc., no interesa la acumulación del sustrato lactato, ya que el

piruvato es metabolizado por la vía del ácido cítrico, predominando la fracción LDH). Por el contrario, en tejidos con notable resistencia a la anoxia, tales como hígado y músculo esquelético, hay preponderancia de la fracción LDH₁ la cual no se inhibe con sustrato piruvato, de modo que la reacción se desplace en el sentido de formación de lactato.

Debido a esta organoespecificidad, al lesionarse un órgano las alteraciones isoenzimáticas se detectarán tanto en el enzimograma de dicho órgano como en el suero periférico.

Los valores normales de las isoenzimas LDH encontradas por nosotros fueron las siguientes ($x \pm s$)¹¹ (gráfico 1):

LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
24,7 ± 3,6	36,0 ± 4,5	20,8 ± 2,1	11,4 ± 2,6	7,0 ± 2,3

En el presente trabajo nos proponemos hacer un estudio del comportamiento de las isoenzimas de la LDH en pacientes con hepatopatías, y a la vez destacamos una comparación laparoscópica —anatomopatológica— isoenzimática de dichos pacientes.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 126 pacientes que presentaban diversas hepatopatías diagnosticadas por laparoscopia, complementada con biopsia hepática por punción, excepto en las cirrosis hepáticas, donde el cuadro laparoscópico es tan concluyente que se prescinde de la biopsia. En los casos de metástasis hepáticas, la necropsia dio el diagnóstico final respecto al tumor primitivo. Los pacientes estudiados estaban hospitalizados o procedían de las consultas externas especializadas del Instituto. A estos enfermos se les realizaron —conjuntamente— exámenes de laboratorio: transaminasa glutámico-pirúvica (TGP), pruebas hepáticas de floculación, fosfatasa alcalina, bilirrubina, tiempo de protrombina, etc.

Se hizo electroforesis en gel de agar al 1% en plaquitas portaobjetos, utilizando amortiguador Veronal-Veronal sodio a pH 8,6 según la técnica de Van del Helm.¹¹ Se tomó suero de sangre no hemolizada, y las determinaciones se realizaron dentro de las primeras 24 horas para evitar la inactivación de las isoenzimas.

Los casos se agruparon, según su afección, como sigue:

Hepatitis aguda	21 casos
Hepatitis crónica persistente	42 casos
Hepatitis crónica agresiva . .	31 casos
Cirrosis hepática	17 casos
Esteatosis hepática	9 casos
Afección tumoral hepática . .	6 casos

RESULTADOS

Pasaremos a analizar cada grupo por separado.

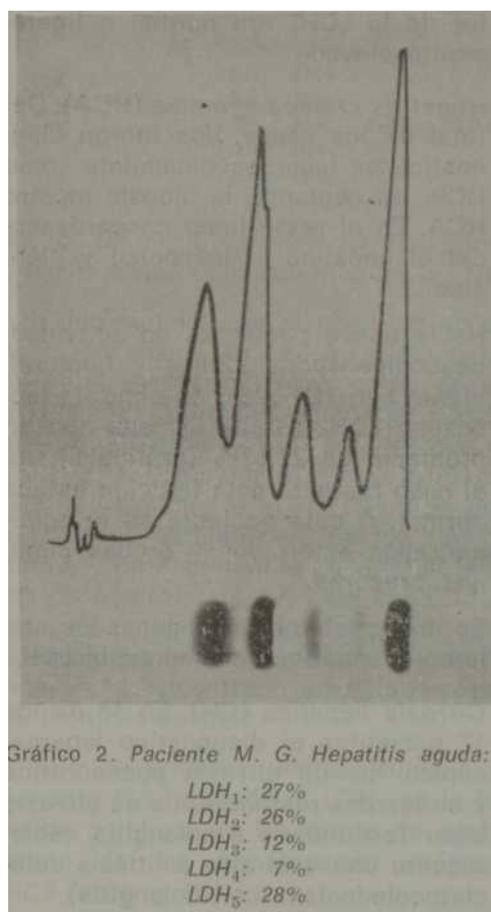
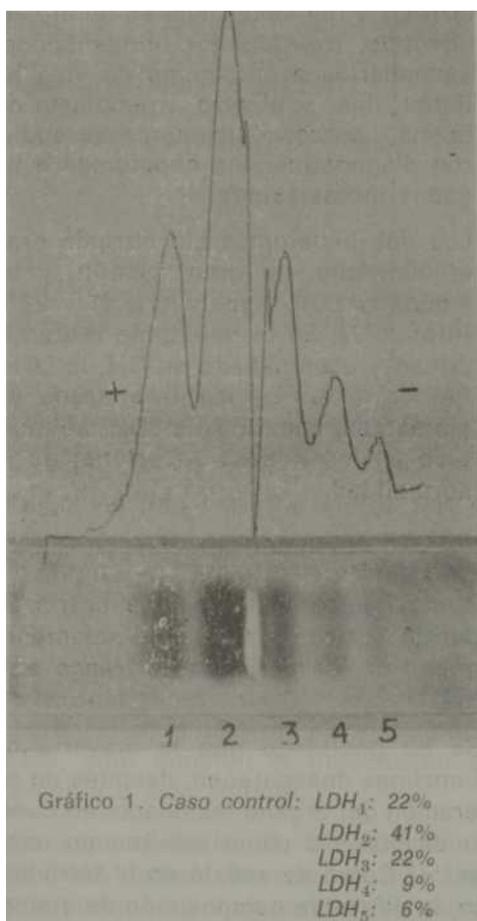
a) *Hepatitis aguda* (HA). En los 21 casos estudiados el diagnóstico laparoscópico fue de hepatitis aguda o hígado colestásico, excepto en uno, en el cual se diagnosticó esteatosis y la biopsia mostró hepatitis en regresión. En varios casos la laparoscopia detalló hepatitis en estadio de regresión, coincidiendo siempre con la biopsia.

Del total de los casos, solamente en siete se realizó la enzimoforesis en la fase aguda comenzante de la enfermedad, y se detectó un aumento de la fracción LDHr, con un promedio de 29,7% (gráfico 2). En general, el aumento de esta isoenzima tuvo correlación con la TGP. Varios pacientes se siguieron evolutivamente, y mostraron

disminución progresiva de los valores de LDHr, conjuntamente con la disminución de la TGP aunque usualmente se normalizaba antes que ésta (esto acompañado de mejoría del cuadro clínico); este descenso paralelo de ambas enzimas es un signo favorable de evolución hacia la curación (gráficos 3, 3a y 3b). En una paciente que falleció por hepatonecrosis, la LDHr, era normal, con TGP de 165 UW; a esta enferma se le administraban esteroides en altas dosis.

En el resto de los casos el estudio isoenzimático se hizo en período de regresión, durante el cual la LDHr, presentó un promedio de 11%.

Es de resaltar que en tres pacientes, quienes clínicamente y por las demás



pruebas hepáticas estaban en franca mejoría, aunque aún presentaban íctero y TGP elevada, aunque evolutivamente en descenso, la LDH-, era normal: estos tres pacientes recibían esteroides como parte del tratamiento.

- b) *Hepatitis crónica persistente* (HCP). En la totalidad de los pacientes el diagnóstico laparoscópico coincidió con el anatomopatológico. Siete de estos pacientes presentaban un brote agudo de su enfermedad, manifestado clínica y humoralmente (íctero y TGP aumentada entre otros datos), mostrando la fracción LDH-, elevada con un promedio de 30% (rango de 20 a 46%) (gráfico 4). La laparoscopia en varios de estos casos señaló los signos de actividad, corroborados después en la biopsia.

En los casos restantes, que no estaban en período de actividad, el valor de la LDH.- era normal o ligeramente elevado.

- c) *Hepatitis crónica agresiva* (HCA). Del total de los casos, dos fueron diagnosticados laparoscópicamente como HCP; no obstante, la biopsia mostró HCA. En el resto hubo concordancia del diagnóstico endoscópico y biopsico.

Había nueve pacientes en actividad, descompensados clínica y humoralmente con TGP alta: en ocho, la isoenzima LDH-, estaba elevada con un promedio de 21,13% (gráfico 5); en el caso restante esta fracción estaba normal. A este paciente se le administraban esteroides y drogas inmunosupresoras.

En los pacientes compensados, no hubo apenas variaciones en la LDHr,.

- d) *Cirrosis hepática* (CH). En 15 de los 17 pacientes el diagnóstico laparoscópico fue de cirrosis posnecrótica y en los dos restantes fue de cirrosis biliar (secundaria a colangitis esclerosante uno y el otro a litiasis cole- cistocoleodociana con colangitis).

La mayoría de los pacientes estaban en fase compensada, no evidenciando aumento de la LDH-, (promedio 9%, rango de 4 a 13%). Sin embargo, en cinco pacientes descompensados, principalmente con íctero, la LDH-, promedio fue de 17%; (gráfico 6); en uno de éstos, el cual se trataba de una cirrosis biliar, la LDHr, en una determinación anterior era normal, pero al presentar el paciente una crisis de colangitis aguda supurada, por la cual falleció, la LDH-, ascendió a 19%.

- e) *Esteatosis hepática*. El diagnóstico laparoscópico no coincidió con el anatomopatológico en dos casos, pues se diagnosticó HCP. La LDH-, fue normal en todos los casos.

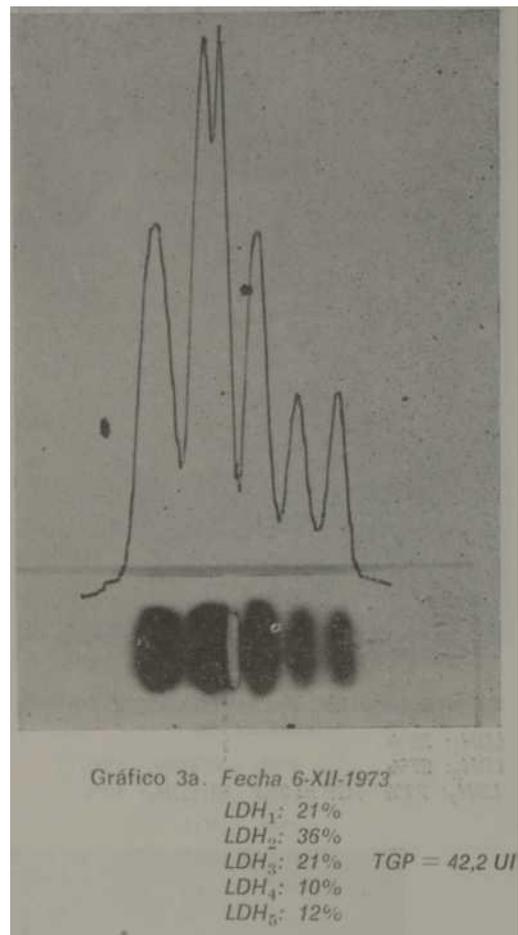
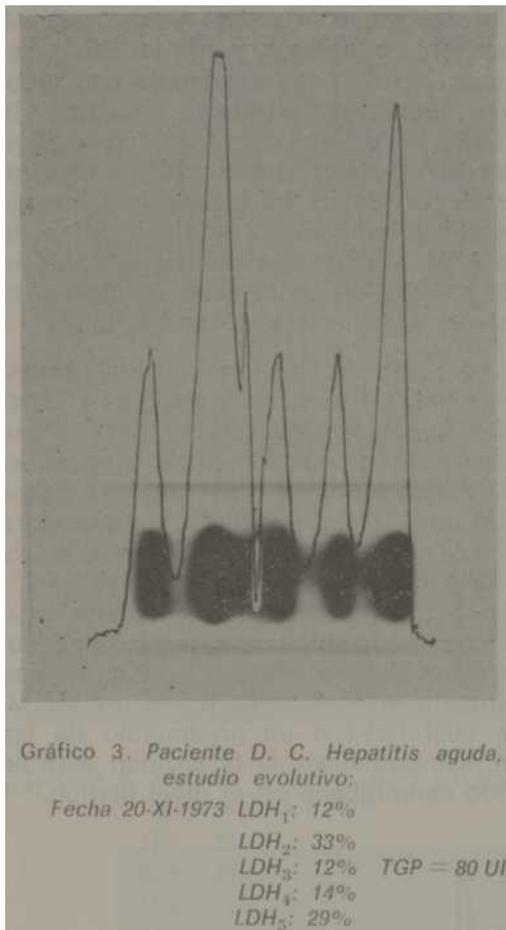
- f) *Afección tumoral hepática*. Los diagnósticos finales fueron los siguientes: tres hepatomas, de ellos dos sin cirrosis y uno localizado en un hígado cirrótico; tres hígados metastásicos; secundarios a carcinoma de vías biliares, dos; y el otro a neoplasia de mama. Laparoscópicamente se pudieron diagnosticar los hepatomas e hígados metastásicos.

Los dos hepatomas sin cirrosis eran unicéntricos, de gran tamaño, y en ambos la LDH* ascendió a 27 y 22% (gráfico 7). En el hepatoma restante, difuso y acompañado de CH, la LDHr, fue de 11%. En los tres casos de metástasis hepáticas la LDHs se mantuvo en los límites superiores de la normalidad.

DISCUSION

Como hemos visto, en los casos de hepatitis la isoenzima LDH-, solamente aumentó en los períodos de franca actividad.

Se ha postulado que la mayoría de las enzimas desaparecen, después de su liberación del órgano lesionado, en cuestión de horas o como máximo en unos días.^{11,12} Como se señaló en la introducción, la diferente composición de amino-



ácidos de los monómeros de las isoenzimas LDH están regulados por dos genes separados, responsables de su producción y que en los tejidos el control genético de la síntesis de estas isoenzimas está influenciado por el tipo de metabolismo predominante.

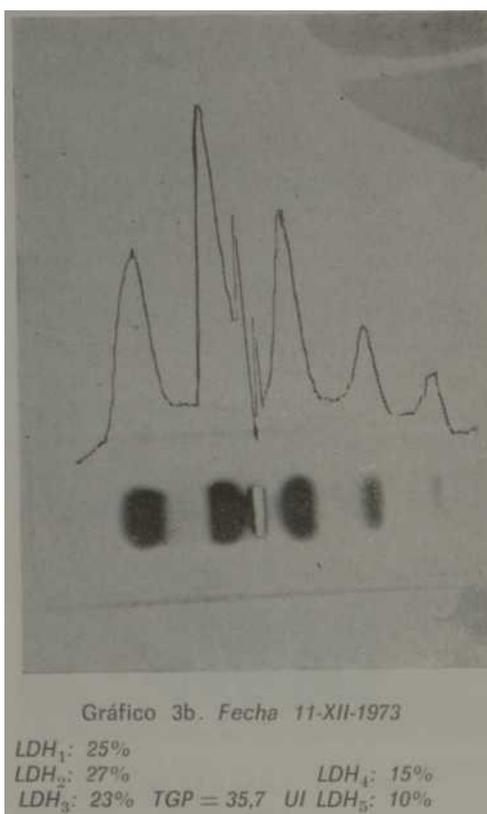
Debido a que los monómeros H y M no son formados intravascular o extracelularmente, el nivel sérico de la enzima es un balance entre su liberación por los tejidos y su aclaramiento del suero por el sistema reticuloendotelial; o sea, que no solamente el origen de la LDH es importante en la determinación del perfil sérico, sino también el mecanismo de excreción o aclaramiento.¹³

La supervivencia de las isoenzimas LDH individuales, basado en su rango de aclaramiento independiente, puede ser un factor importante para explicar el perfil sérico isoenzimático de la LDH.

Si uno supone que el nivel sérico de las isoenzimas LDH es un reflejo tanto del catabolismo individual como de su producción, entonces el patrón sérico isoenzimático de la LDH sugiere que el sistema reticuloendotelial cataboliza más rápidamente la LDH₁, mientras que la LDH₅ es catabolizada menos rápidamente, y probablemente por distintos tipos de macrófagos. En este caso, la liberación de LDH₅ por los tejidos es considerablemente mayor que la que se refleja en la encontrada en el suero por las técnicas usuales.¹³

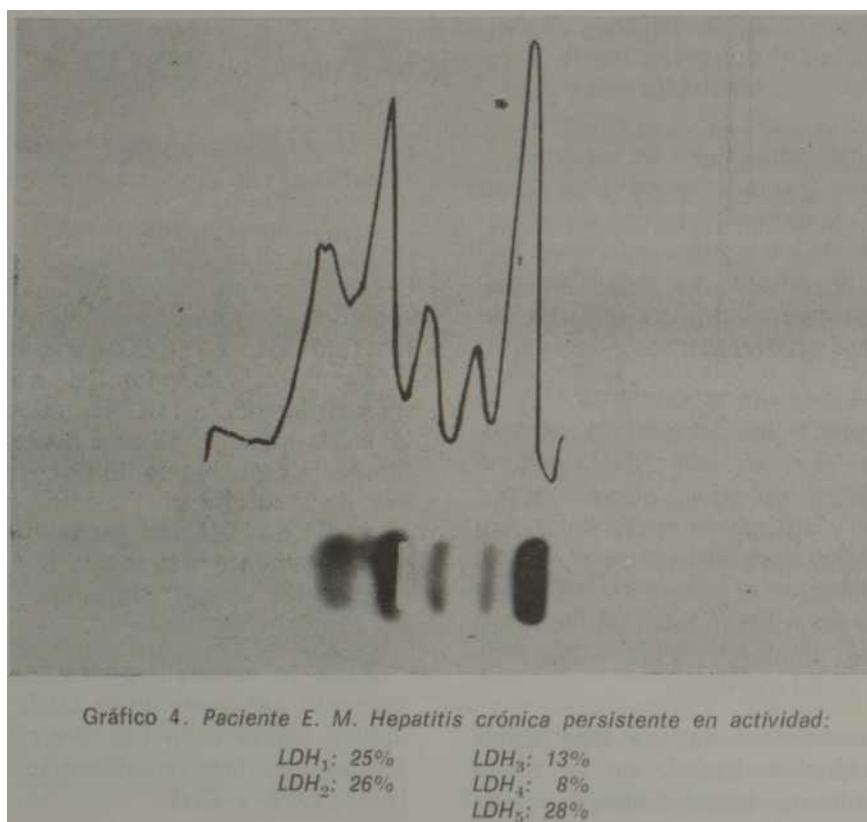
Todo lo anterior podría explicar el aumento tan fugaz de la LDH₁ en la hepatitis aguda y en las crisis de agudización de las hepatopatías crónicas (HCP, HCA y CH).

IM



Referente a la paciente que falleció por hepatonecrosis y el de HCA, así como los de hepatitis aguda con pruebas hepáticas alteradas, excepto la LDH₀, es de resaltar que todos ellos estaban recibiendo esferoides en su tratamiento. Se ha informado que los esteroides influyen en el nivel sérico de la LDH, y afectan tanto su mecanismo de producción como el de aclaramiento por el sistema reticuloendotelial.¹³

La razón de que en los dos hepatomas unicéntricos, de tamaño considerable, fueron en los que se detectó aumento de la fracción LDH-, y no en el de forma difusa ni en los tres casos con metástasis hepática, quizás esté en relación con que el aumento de esta iso-enzima refleje la masa tumoral total.¹⁴ Se ha señalado que en los tumores malignos ocurre una transformación de isoenzimas de la LDH en el sentido de una síntesis incrementada de la unidad M, lo cual lleva a un predominio de las formas catódicas de la enzima: esto ha sido comprobado en el nivel hístico.^{15,18}



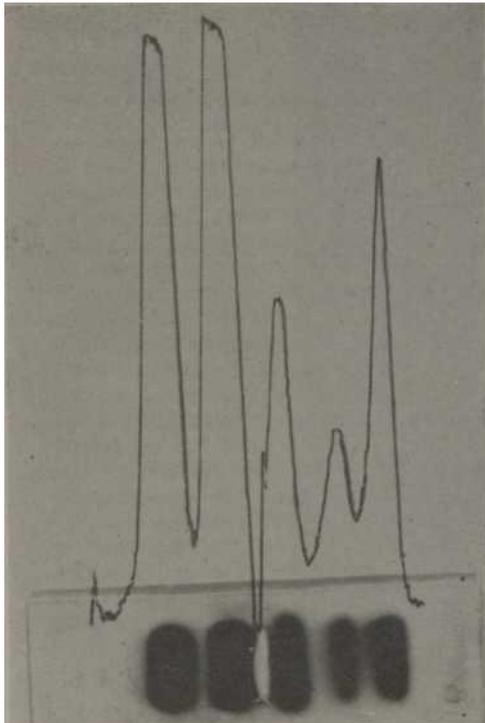


Gráfico 5. Paciente F. C. Hepatitis crónica agresiva en actividad:

LDH ₁ :	23%
LDH ₂ :	28%
LDH ₃ :	18%
LDH ₄ :	12%
LDH ₅ :	19%

Planteux y Toulet examinando pacientes con neoplasias y comparándolos con los que tenían diagnóstico de metástasis hepáticas, o sin éste, llegaron a la conclusión de que sí existía una LDH total anormal unida a la perturbación de las fracciones LDtWs, es un excelente medio de diagnóstico diferencial positivo a favor de la existencia de metástasis hepáticas en la mayoría de los casos. Los tres casos nuestros con metástasis hepáticas no mostraron aumento de la LDH., estando la LDH total ligeramente elevada, pero sin un predominio de las fracciones catódicas. Por el contrario, en uno de estos casos predominaban ostensiblemente las fraccio

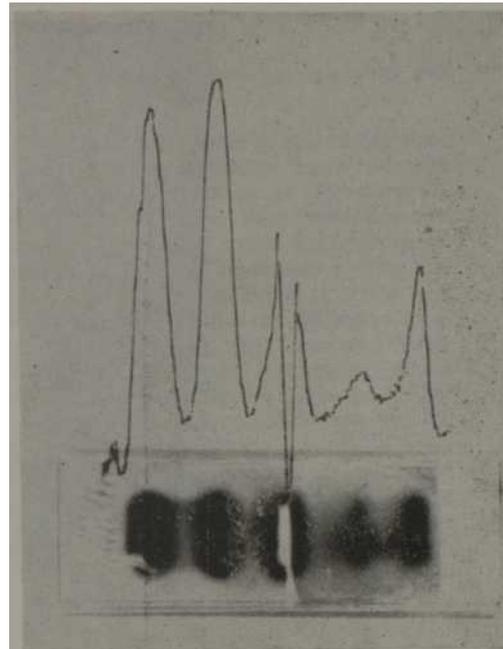
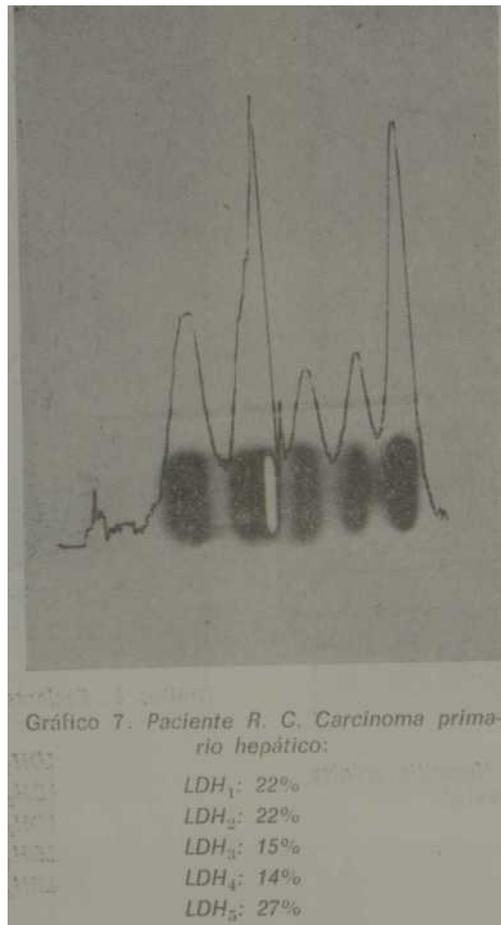


Gráfico 6. Paciente J. S. Cirrosis hepática en actividad:

LDH ₁ :	26%
LDH ₂ :	27%
LDH ₃ :	16%
LDH ₄ :	14%
LDH ₅ :	17%

nes anódicas, a expensas de la LDH₂: se trataba de un adenocarcinoma de vías biliares, conducto pancreático y ampolla de Vater con colangitis supurada, metástasis hepáticas, ganglionares y nefrosis colémica, lo cual quizás explique el predominio de esa isoenzima.

En cuanto al diagnóstico laparoscópico en las hepatopatías, de los 126 casos estudiados, en la gran mayoría fue exacto, pues solamente en 5 casos (4%) hubo diferencias diagnósticas entre el aspecto macroscópico y el histológico. Por medio de la laparoscopia se pudo precisar, además, en varios casos la etapa de agudización de las hepatitis crónicas. En las cirrosis y en los hígados tumorales, el diagnóstico laparoscópico fue de fundamental importancia.



■ SUMMARY

Quintero Díaz, M. et al. Study of the isoenzymes of lactate dehydrogenase in patients with hepatopathies. Rev Cub Med 16: 2, 1977.

The behavior of lactate dehydrogenase (LDH) isoenzymes was studied in serum samples obtained from 126 patients with different hepatopathies —acute hepatitis, chronic persistent hepatitis, chronic aggressive hepatitis, cirrhosis, steatosis and hepatic tumor. The diagnosis was laparoscopically established and liver biopsies were obtained in all but in cirrhotic patients in who the laparoscopic appearance was so convincing that biopsy, it could be omitted. In patients with hepatic metastases the diagnosis of the primitive tumor was made at necropsy. In acute hepatitis an increase of LDH₅ isoenzyme levels during the early active stage was confirmed. In chronic persistent and aggressive hepatitis an increased level of this isoenzyme was only found in patients with clinical and humoral decompensations. Isoenzymic differences between the acute outbreak of chronic hepatitis and acute hepatitis were not detected. It was found that the LDH₃ fraction was only increased in decompensated hepatic cirrhoses, mainly the icteric ones. In general, the increased level of this isoenzyme bore a correlation with glutamic-pyruvic transaminase, although the former returned to normal levels before the latter. LDH₃ changes were not found in steatoses. A frank increased level of LDH₅ was found in two out of the three patients with primary hepatic carcinoma —both of them unicentral— unlike the other patient with a diffuse carcinoma which did not induce LDH₅ changes. The laparoscopic diagnosis was very significant in all types of hepatopathy since only one discrepancy with the histological diagnosis in five patients (4%) was obtained.

RESUME

Quintero Díaz, M. et al. *Etude des isoenzymes de la lactico-déshydrogénase chez des patients avec hépatopathies.* Rev Cub Med 16: 2, 1977.

Le comportement des isoenzymes de la lactico-déshydrogénase (LDH) a été étudié dans le sérum de 126 patients atteints de différentes hépatopathies (hépatite aiguë, hépatite chronique persistante, hépatite chronique agressive, cirrhose, stéatose et foie tumoral). Le diagnostic a été établi par laparoscopie avec biopsie hépatique dans tous les cas, sauf dans les cirrhoses hépatiques, où l'impression laparoscopique est si évidente qu'on ne fait pas la biopsie. Dans les cas de métastases hépatiques, la nécropsie a donné le diagnostic final sur la tumeur primitive. Dans les hépatites aiguës on a constaté une augmentation de l'isoenzyme LDH_r, à la phase débutante active. Dans les hépatites chroniques persistante et agressive, ce isoenzyme ne s'est élevé que dans les cas décompensés clinique et humoralement. On n'a pas détecté de différences isoenzymologiques entre la poussée aiguë des hépatites chroniques et des hépatites aiguës. Dans les cirrhoses hépatiques on a constaté que les décompensées, notamment avec ictère, ont été les seules qui ont élevé la fraction LDI-I. En général, l'augmentation de ce isoenzyme a eu une corrélation avec la transaminase glutamopyruvique, quoiqu'il revint à la normalité avant que celle-ci. Dans les stéatoses on n'a pas trouvé d'altérations de la LDH_s. Une véritable augmentation de cette fraction a été trouvée dans deux des trois carcinomes primaires du foie, les deux avec un seul centre, en opposition avec l'autre cas de carcinome qui, en dépit d'être diffus, n'a pas altéré la LDH_s. Le diagnostic laparoscopique a été d'une grande importance dans tous les types d'hépatopathies, car il n'y a eu qu'une différence avec le diagnostic histologique sur 5 cas (4%).

BIBLIOGRAFIA

1. Wieme, R. J. Nomenclature of so-called Isoenzymes. *Lancet* 1: 270, 1962.
2. Markert, C. L.; Moller, F. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns. *Proc Nat Acad Sci* 45: 753, 1959.
3. Markert, C. L.; Apella, E. Physicochemical nature of isoenzymes. *Ann NY Acad Sci* 94: 678, 1961.
4. Cahn, R. D. et al. Nature and development of lactic dehydrogenases. *Science* 136: 962, 1962.
5. Fritz, P. J.; Jacobson, K. B. Lactic dehydrogenases: subfractionation of isoenzymes. *Science* 140: 64, 1963.
1. Instrucciones para el equipo Shandon para electroforesis. Shandon Scientific Co. Ltd, London.
7. Nance, W. E. et al. Lactic dehydrogenase: genetic control in man. *Science* 142: 1075, 1963.
8. Kaplan, N. O. Nature of multiple molecular of enzymes. *Ann NY Acad Sci* 51: 282, 1968.
9. Quintero, M.; Zharev, S. B. Estudio de las isoenzimas de la lactatodeshidrogenosa en sujetos normales. *Rev Cub Med* 14: 123, 1975.
10. Van Der Helm, H. J. A simplified method of demonstrating LDH isoenzymes in serum. *Clin Chim Acta* 7: 124, 1962.
11. Van Der Helm, H. J. et al. Lactin dehydrogenase isoenzymes in myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 7: 540, 1962.
12. Henley, K. S. et al. Enzimas en el suero y su valor diagnóstico. Ed. Espaxs, Barcelona, 1966.
13. Cawley, L. P. Electrophoresis and immunoelectrophoresis. Ed. Little, Brown and Co., Boston, 1969.
14. Coodley, E. L. Diagnóstico enzimológico. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, 1972.
15. Dorrance, W.; Finkle, E. LDH isoenzymes in vaginal pools of patients with pelvic malignant tumors. *Surg Gynec Obstet* 129: 547, 1969.
16. Goldman, R. D. et al. Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissues. *Cancer Res* 24: 389, 1964.
17. Langvad, E. Lactate dehydrogenase isoenzyme patterns in bronchogenic carcinoma. *Europ Cancer* 4: 107, 1968.
18. Oliver, J. A. et al. LDH isoenzymes in benign and malignant prostate tissue. *Cancer* 25: 863, 1970.
19. Planteux, G; Toulet, J. Intérêt des isoenzymes dans le diagnostic des métastases hépatiques de la lactico-déshydrogénase. *Revue Méd Chir Mal Foie* 46: 75, 1971.