

ISOENZIMAS DE LA DESHIDROGENASA LACTICA
Y SU APRECIACION DIAGNOSTICA*

DR. FRANCISCO DURAZO QUIROZ**

INTRODUCCIÓN

LA MAYOR parte de las enzimas llevan a cabo su trabajo dentro de las células. El contenido enzimático de los líquidos extracelulares (orina, bilis, plasma sanguíneo y L. C. R.) es muy reducido; sin embargo recientemente se ha demostrado que puede aumentar bruscamente en el curso de varias enfermedades con lesión de un órgano o tejido que determina la salida de la enzima hacia el líquido extracelular, bien sea por modificación en la permeabilidad celular, por necrosis, por algún proceso inflamatorio, o bien por el efecto de algún tumor maligno sobre un tejido en particular.

Es muy grande el número de enzimas que se han estudiado con fines diagnósticos, y actualmente la investigación en este campo es extraordinariamente abundante. Una de ellas, la deshidrogenasa láctica (D. L.), ha sido objeto de estudios exhaustivos, en vista de que ha demostrado ser útil en el diagnóstico y pronóstico de algunas enfermedades como: infarto del miocardio, leucemias, anemias, tumores malignos principalmente metastásicos, linfomas, algunas hepatopatías, enfermedades renales activas, lesiones musculares, etc., pero esta versatilidad de la D. L. indudablemente ha sido determinante de su inespecificidad; sin embargo, investigaciones recientes e ingeniosas han puesto en manos del Laboratorio toda una gama de determinaciones enzimáticas, que sirven de auxi-

* Trabajo de Sección (Química biológica), leído por su autor en la sesión ordinaria del 31 de octubre de 1962.

** Director de los Laboratorios del Hospital General.

liares diagnósticos en distintos procesos patológicos. Hasta hace muy poco tiempo se consideraba a cada enzima como una entidad homogénea en su composición, pero en 1958 quedó demostrado por Market y Moller,¹ mediante estudios electroforéticos, que algunas enzimas pueden descomponerse en fracciones con distintas velocidades de migración en el campo eléctrico, aunque con especificidades afines para un mismo sustrato, naciendo el concepto de "isoenzimas o

ISOENZIMAS DE DESHIDROGENASA LACTICA
SUERO SANGUINEO

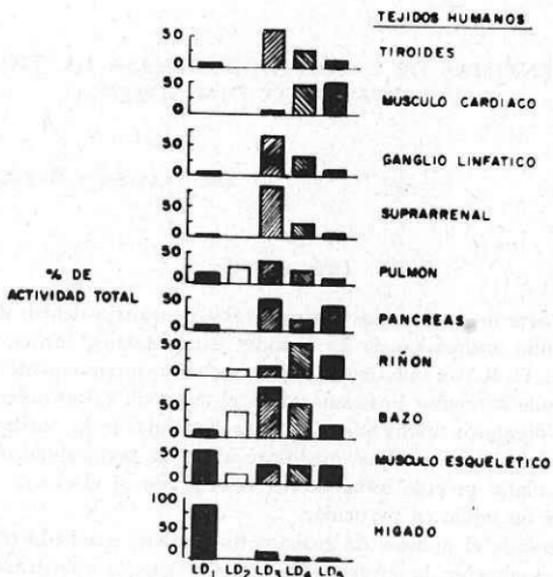


FIGURA 1

isozimas" como han sido llamadas estas fracciones. Una de las entidades enzimáticas que ha sido explorada desde este punto de vista es la D. L.

Según los trabajos de Wroblewski y col.,² confirmados por otros autores,³ se pueden separar en esta enzima cinco distintas fracciones de isoenzimas. Determinaciones realizadas en el suero sanguíneo así como en distintos extractos acuosos de órganos humanos normales, permiten establecer un patrón de isoenzimas en el suero del individuo adulto normal que corresponden a los siguientes porcentajes:

Fracción I.: 0-5; II.: 0-15; III.: 0-35; IV.: 25-50; V.: 10-35,

y un patrón individual para cada uno de los distintos órganos, cuya diferencia se puede apreciar en la Fig. 1. Tienen particular significación: el predominio de las fracciones V y IV en el músculo cardíaco; de la fracción I en el hígado, y de la fracción III en el tiroides y en el pulmón principalmente; y habiéndose demostrado la especificidad de cada uno de estos patrones, así como la alteración del patrón normal del suero en forma característica según la localización de la lesión, es fácil deducir el valor diagnóstico de las determinaciones fraccionadas de D. L. Aún cuando las isoenzimas se han podido separar únicamente por procedimientos electroforéticos, Wroblewski ha comprobado la diferente termolabilidad de las isoenzimas de D. L. del suero. La fracción I de origen hepático es la más termolábil, ya que se destruye en su totalidad cuando se incuba a 57°C. durante 30'. La fracción V, de origen cardíaco, resiste la temperatura de 65°C, durante 30'. Las fracciones intermedias II, III y IV resisten la temperatura de 57°C, pero se destruyen a 65°C. Es de señalarse que se ha comprobado una buena correlación entre el fraccionamiento por el calor y por elec-

ISOENZIMAS DE D. L. DEL SUERO HUMANO. ESTABILIDAD AL CALOR

- A. Muestra no calentada = actividad total.
 - B. Muestra calentada a 57°C 30'.
A — B = fracción labil (I).
 - C. Muestra calentada a 65°C 30' = fracción estable (V).
B — C = fracciones de estabilidad intermedia (II-III- y IV).
-

FIGURA 2

troforesis. Los resultados preliminares obtenidos por Wroblewski y col. son alentadores y permiten por un procedimiento sencillo sugerido por ellos determinar el patrón de isoenzimas de D. L. del suero. Basados en estos trabajos estamos realizando la medición del patrón de isoenzimas de D. L. del suero en el hombre y en el perro, tanto en condiciones normales como en diferentes situaciones patológicas. Nuestros resultados serán motivo de una comunicación a esta Academia. En esta breve comunicación mostraremos algunos de nuestros hallazgos y enfatizaremos sobre el valor diagnóstico de esta determinación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Método. El suero sanguíneo obtenido, evitando al máximo la hemólisis, se incubaba como se indicó anteriormente en presencia de DPNH a una concentración de 0.25 mlg. por c.c de suero, el que ha demostrado aumentar la estabilidad de las fracciones termoestables. Posteriormente se procede a determinar la acti-

vidad de la D. L. en cada una de las tres fracciones: *a*) permanece a temperatura ambiente, *b*) se incuba a 57°C., 30', *c*) se incuba a 65°C., 30' (Fig. 2), por el método calorimétrico de Cabaud y Wroblewski,⁴ basado en la reducción del ácido pirúvico a ácido láctico en presencia de DPNH, el cual es oxidado a DPN en cantidad equivalente al piruvato reducido. El ácido pirúvico sobrante reacciona con la 2, 4, dinitrofenil hidrazina, para formar hidrazonas, las que tratadas con álcali forman un complejo colorido cuya intensidad es inversamente proporcional a la actividad enzimática. Wroblewski considera como cifras normales en suero sanguíneo las comprendidas entre 200 y 500 u. por c.c.

Material. Nuestro material lo constituye: *a*) el suero sanguíneo obtenido de perros, antes y después de producir infarto miocárdico y pulmonar experimentales, *b*) el suero sanguíneo de adultos normales de ambos sexos, y *c*) el suero sanguíneo de pacientes con hepatitis infecciosa, infarto miocárdico e infarto pulmonar. El objeto de nuestro trabajo es trazar el patrón característico normal y el patológico en cada una de dichas entidades y valorar su aplicación diagnóstica.

El estado actual de nuestros estudios no nos permite hacer un análisis estadístico, ni obtener conclusiones definitivas.

RESULTADOS

Nuestros resultados han sido muy variables en el perro y hemos tenido dificultad para integrar un patrón normal característico, hecho atribuible a la variante representada por la hemólisis o bien a que existen amplias variaciones de un día a otro en el perro, como han sido encontradas en el conejo, y atribuibles a un mecanismo homeostático en el sistema circulatorio que puede actuar indiscriminadamente sobre las distintas isoenzimas mientras desciende la actividad total a niveles normales. En el hombre normal hemos obtenido un patrón caracterizado (Fig. 3) por predominio de las fracciones intermedias (II, III y IV); le sigue la fracción V y muy poco de la fracción I.

En el infarto del miocardio encontramos un acentuado aumento de la fracción V (Fig. 4), tal como ha sido señalado por el mismo Wroblewski y col. En uno de nuestros casos pudimos hacer un estudio en serie, haciendo determinación simultánea de T. G. O. después de instalado el cuadro de infarto del miocardio hasta el 9o. día (Fig. 5). Llama la atención la persistencia en la elevación de la actividad total en presencia de una normalización de la T. G. O. y del patrón de isozimas, así como las variaciones en la fracción I. En hepatitis infecciosa el predominio de la fracción I es manifiesto y representa más del 50% (Fig. 6).

A.D. 35, ♂ NORMAL
D.L. Total : 237 u/c. c.

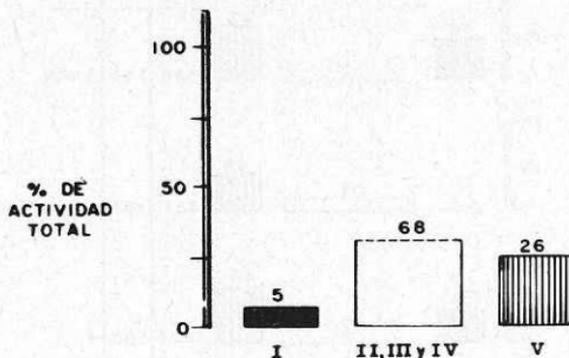


FIGURA 3

M.G. 64 ♂ INFARTO DEL MIOCARDIO
D.L. Total= 1637 u/c.c

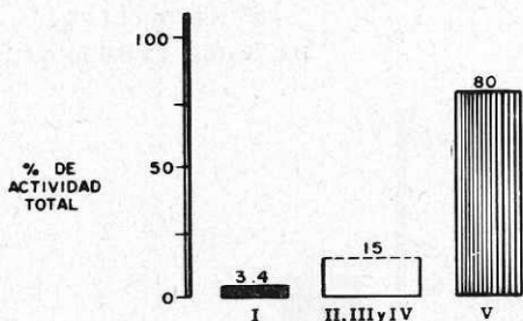


FIGURA 4

En un caso de infarto pulmonar estudiado al 5o. día de su instalación, obtuvimos un patrón no muy característico como era de esperarse, con predominio franco de las fracciones intermedias, ya que el patrón pulmonar se caracteriza por predominio de las fracciones III y II; esto probablemente debido a que lo sorprendimos en el 5o. día de evolución favorable. (Fig. 7).

INSOENZIMAS DE DESHIDROGENASA LACTICA
 M G 64 ♂ INFARTO DEL MIOCARDIO -

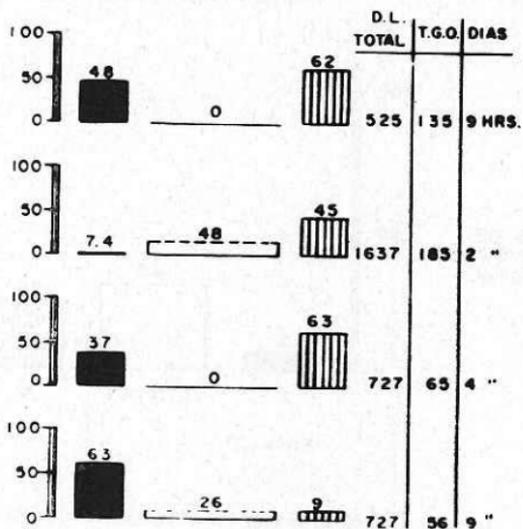


FIGURA 5

♂ HEPATITIS

D.L. Total: 1588 u/c.c.

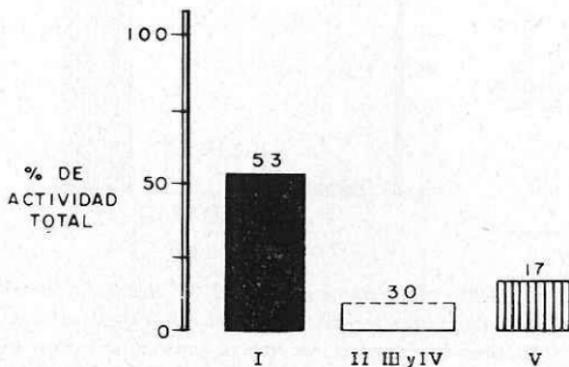


FIGURA 6

O G 60 ♂ INFARTO PULMONAR
D.L. Total = 312 u/c c

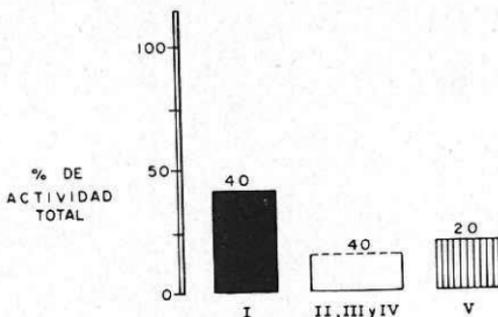


FIGURA 7

SUMARIO

El suero sanguíneo del individuo adulto normal contiene 5 isozimas de D. L. en proporción característica. Cada tejido contiene proporciones características de las diferentes isozimas; no se han encontrado 2 tejidos que contengan la misma composición. Cuando un tejido es lesionado libera al plasma las isozimas contenidas en él, resultando en una alteración del patrón normal caracterizado por el aumento de las fracciones presentes en el tejido afectado. La medición de las isozimas de D. L. en el suero ha demostrado su utilidad en diferentes enfermedades, principalmente infarto miocárdico y hepatitis infecciosa. Pensamos que ofrece grandes posibilidades diagnósticas en el infarto pulmonar, en tiroiditis y en tumores renales, principalmente, así como en otros órganos en donde todavía no ha sido suficientemente explorada.

El descubrimiento de estas nuevas entidades, que hoy nos ocupan, representa una nueva dimensión al servicio de la clínica.

BIBLIOGRAFIA

1. Market C. L. y Moller F.: *Multiple forms of enzymes: Tissue, ontogenetic and species specific patterns*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 45: 753, 1959.
2. Wroblewsky F. y Gregory K.: *Lactic Dehydrogenase Isozymes and their distribution in normal tissues and Plasma*. A. N. Y. Acad. of Sci. Vol. 94-912-932, 1961.
3. Wieland T.; Pfeleiderer G.; Haupt I., y Worner W. *Biochem. Z.* 332; 1-10-1959.
4. Cabaud P. y Wroblewsky F.: *Colorimetric Measurement of Lactic Dehydrogenase activity of Body Fluids*. Am. J. of Clin. Path. Vol. 30; N. 3-234-236-1958.
5. Erikson R. G. y Morales D. R.: *Clinical use of Lactic Dehydrogenase*. New. Eng. J. of Med. Vol. 265 N. 10-478-482, 1961.