PREMIO SOCIEDAD VENEZOLANA DE BIOANALISTAS ESPECIALISTAS (2DA PARTE)

VALOR PRONÓSTICO DE LAS ISOENZIMAS DE LDH EN PACIENTES CON LINFOMA NO HODGKIN.

Priva Zabner de Oziel[1], Rosa Somoza[1], Valentina Wallis[1], Claudia Galicia[1], Jean Desenne[1], Ana Monzón de Orozco[1]✝, Marina González[1], Gretta Acquatella[1], Marisela Morales[1], Yasmín Ordoñez[1], María Alejandra Torres[1], Antonieta Natale[1], Aixa Müller[1].
Instituto de Oncología y Hematología (IOH). Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS), Universidad Central de Venezuela (UCV)

Recibido para publicación abril 2013. Aprobado para publicación junio 2013.

RESUMEN:
Introducción: La enzima lactato deshidrogenasa (LDH) es un factor pronóstico en Linfoma No Hodgkin (LNH). El objetivo del trabajo consistió en evaluar prospectivamente el valor pronóstico de las isoenzimas de LDH en pacientes con LNH. Métodos: Se estudiaron 67 pacientes de primera consulta con diagnóstico de LNH, sin tratamiento previo, VIH negativo y sin otras enfermedades, tiempo promedio de seguimiento 30 meses (rango 3-48 meses). Las muestras de suero se recolectaron previas al tratamiento. La LDH total (LDHT) e isoenzimas de LDH se determinaron respectivamente por método cinético y electroforesis de proteínas en gel de agarosa. Se procesaron muestras de 122 controles sanos para establecer los valores de referencia de las isoenzimas de LDH. Resultados: 49(73%) LNH agresivos y 18(27%) LNH indolentes y según el Índice Pronóstico Internacional (IPI), 60 (90%) bajo riesgo y 7(10%) alto riesgo. Las isoenzimas LDH1, LDH2, LDH3, LDH4 y LDH5 presentaron niveles absolutos significativamente elevados en 25 (37%), 29 (43%), 32 (48%), 20 (39%) y 11 (16%) de los casos respectivamente (p<0,0001). La actividad porcentual de LDH4 en los pacientes con LNH agresivos fue significativamente superior respecto al grupo de LNH indolentes (p=0,01). En el análisis univariado, valores absolutos elevados de LDH1 se asociaron significativamente con una sobrevida global disminuida (p=0,0064) en el grupo total de pacientes. LDH1 conservó su valor pronóstico aún en el grupo de pacientes con valores normales de LDHT (p=0,04). En pacientes con LNH agresivos, valores elevados de LDHT e IPI alto riesgo se asociaron significativamente con una menor sobrevida global (p<0,05). En el análisis multivariado la LDHT e IPI resultaron factores pronósticos independientes de la sobrevida. Conclusiones: Alteraciones específicas del patrón de isoenzimas de LDH sugieren la relación de LDH4 con la biología del tumor y su actividad proliferativa en LNH agresivos y el valor pronóstico de LDH1 como factor adverso de la sobrevida en el análisis univariado. Se confirmó el valor pronóstico independiente de LDHT sérica y la utilidad del IPI. El estudio de las alteraciones en el perfil de las isoenzimas de LDH podría complementar el valor pronóstico de la LDHT sérica en pacientes con LNH.

Palabras claves: LDH, Isoenzimas de LDH, Linfoma No Hodgkin.

PROGNOSTIC VALUES OF LDH ISOENZYMES IN PATIENTS WITH NON-HODGKIN´S LYMPHOMA

SUMMARY
Introduction: Lactate dehydrogenase (LDH) is a prognostic factor in non-Hodgkin lymphoma (NHL). Our objective was to evaluate prospectively the prognostic value of LDH isoenzymes in patients with NHL. Methods: We studied 67 newly diagnosed NHL patients, previously untreated, HIV-negative and free from other disease, median follow-up of 30 month (range 3-48 month). Before starting treatment serum samples were collected for the determination of total LDH (LDHT) and LDH isoenzymes that were respectively assayed by kinetic method and protein electrophoresis in agarose gel. In order to set reference values of LDH isoenzymes samples from122 healthy controls were processed. Results: 49(73%) of the patients were aggressive NHL and 18(27%) indolent NHL and according to the International Prognostic Index (IPI), 60(90 %) low risk and 7(10%) high risk. High absolute values of LDH1, LDH2, LDH3, LDH4 and LDH5 isoenzymes were significantly elevated in 25 (37%), 29 (43%), 32 (48%), 20 (39%) and 11 (16%) of cases respectively (p<0,0001). The percentage value of LDH4 activity in aggressive NHL patients was significantly higher compared to indolent NHL group (p=0,01). In univariate analysis increased LDH1 absolute values were significantly associated with decreased overall survival in the total group of patients (p = 0.0064). LDH1 remained a prognostic factor for survival even when considering the group of patients with normal serum LDHT values (p = 0.04). In patients with aggressive NHL increased values of LDHT and high risk IPI were significantly associated with decreased overall survival (p<0.05). In a multivariate analysis LDHT and IPI score were independent prognostic factor for survival. Conclusions: Specific alterations in the LDH isoenzyme pattern suggest the relationship of LDH4 with the biology of the tumor and its proliferative activity in aggressive NHL and the LDH1 value as an adverse prognostic factor for survival in univariate analysis. We confirmed the independent prognostic value of serum LDHT and the utility of IPI. The study of the changes in the profile of LDH isoenzymes could complement the prognostic value of serum LDHT in patients with NHL.

Keywords: LDH, LDH isoenzymes, Non Hodgkin Lymphoma

Solicitar copia a: Priva Zabner de Oziel (privaoziel@hotmail.com)

Introducción

Los linfomas No Hodgkin resultan de la expansión clonal de linfocitos B, T ó NK que son transformados en diferentes sitios o etapas durante el proceso de diferenciación y maduración celular, originando los diferentes subtipos de linfomas, los cuales comprenden un grupo heterogéneo de neoplasias linfoides que difieren en sus características clínicas, biológicas, celulares y moleculares(1-4).

Con fines prácticos clínicos, los LNH se clasifican en dos categorías o tipos pronósticos, en base a sus características morfológicas y a la velocidad de crecimiento y diseminación del tumor: Los linfomas agresivos, que incluyen los linfomas de intermedio y alto grado de malignidad de células B y T/ NK, con tendencia a un rápido crecimiento y diseminación y los linfomas indolentes, definidos histológicamente de bajo grado de malignidad y de crecimiento lento (1-4).

El sistema más ampliamente utilizado para la categorización de los pacientes con LNH ha sido el Índice Pronóstico Internacional (IPI), desarrollado en el año 1993 por el Proyecto Internacional de Factores Pronósticos para LNH (5), válido para todos los grados de malignidad(6). EL IPI consta de cinco factores pronósticos estadísticamente independientes de la evolución clínica, a saber: edad (≤ 60 años vs. > 60 años), estadio clínico (I-II vs. III- IV), niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) sérica (<100 % del valor normal vs. >100 % del valor normal), estado funcional escala ECOG (0-1 vs. 2-4) o escala Karnofsky (>70% vs. <70%) y número de sitios extra nodales (≤ 1 vs. >1).

La utilidad de las características clínico-patológicas como factores pronósticos depende de la eficacia de un tratamiento específico. El IPI ha ganado aceptación internacional como modelo pronóstico en el manejo de pacientes con LNH tratados con cyclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona (CHOP). A partir del año 2004, a raíz del desarrollo del Rituximab (anticuerpo monoclonal anti CD20) y su adición a la quimioterapia CHOP, surge el Índice Pronóstico Internacional Revisado (R-IPI)(7).

En pacientes con LNH, la enzima lactato deshidrogenasa constituye uno de los componentes del IPI y es considerada como un factor pronóstico adverso de la sobrevida (5-12).

La LDH está conformada por cinco isoenzimas y desde su descripción se ha suscitado un gran interés respecto a su asociación con una variedad de tumores (mama, colon, próstata, pulmón, testículo), así como en malignidades hematológicas (mieloma múltiple, leucemias y linfoma) (12-18).

Las isoenzimas de LDH comprenden una familia de 2-hidroxiácido-oxidoreductasas que simultánea y esteroespecíficamente interconvierten piruvato a lactato y NADH a NAD+, favoreciendo el equilibrio de la reacción y la reversibilidad de la misma (14-18).

La LDH es una enzima esencial en la vía glicolítica de Embden –Meyerhof para la utilización de la glucosa, por lo que está presente prácticamente en todos los tejidos humanos donde ocurre la glicólisis. La LDH es una molécula tetramérica compuesta por dos subunidades o isoformas polipeptídicas inmunológicamente distintas, conocidas como el monómero M ó A (abundante en músculo) y el monómero H ó B (abundante en corazón), también se ha identificado un tercer tipo, la forma X, restringida a los testículos. La isoforma M corresponde al gen A humano y está presente predominantemente en los tejidos anaeróbicos , tales como el músculo esquelético e hígado y la forma H corresponde al gen B humano, predominante en tejidos aeróbicos tal como el músculo cardíaco. Las formas M y H presentan una identidad en la secuencia de aminoácidos del 75%, pero son significativamente diferentes en sus propiedades cinéticas y a pesar de las diferencias estructurales entre las isoformas M y H, son lo suficientemente similares para permitir la mezcla o hibridación de ambas, para formar tetrámeros híbridos o isoenzimas (15-17). Las subunidades M y H son producidas en la misma célula y están destinadas para la misma función general, no obstante, presentan diferencias entre sí y son reguladas independientemente. Las isoenzimas se derivan de genes individuales, los cuales son traducidos en proteínas con secuencias y actividades similares, pero cada una con distintas propiedades cinéticas y regulatorias Las variaciones en la relación de M y H son evidencias directas de la síntesis diferencial de estas proteínas, siendo probable que los efectos producidos por la embriogénesis, hormonas, enfermedades y cambios en la tensión de oxígeno, sobre la síntesis de las subunidades, sean expresiones de la regulación diferencial de los genes (15,19). La

combinación de las diferentes subunidades en tetrámeros híbridos o mezclados conforman las cinco isoenzimas de LDH: H4, MH3, M2H2, M3H y M4, con una estructura altamente conservada y designadas respectivamente LDH1, LDH2, LDH3, LDH4 y LDH5, de acuerdo a su movilidad electroforética de ánodo a cátodo (18).

La actividad de las isoenzimas de LDH ha sido estudiada en malignidades hematológicas observándose cambios en el patrón en pacientes con LNH, sin observar cambios significativos en los casos de leucemia linfocítica crónica y linfoma de Hodgkin (20). Rotenberg y col. (21) reportaron niveles elevados de LDH sérica con predominio de las isoenzimas LDH2 y LDH3 como único signo y, además, de aparición más temprana en linfoma maligno oculto,.

Ricerca y col (22) evaluaron el patrón sérico de las isoenzimas de LDH y su asociación con factores clinicopatolòigicos en pacientes con LNH, al momento del diagnóstico, en recaída y remisión completa, sugiriendo a la isoenzima LDH3 como un marcador confiable de la presencia de enfermedad, mientras que la LDH total estaría más relacionada con la expansión de la misma.

Los estudios de Dumontet y col. (23) indicaron que los pacientes con LNH con incrementos de LDH sérica al momento del diagnóstico, presentaron porcentajes y valores absolutos significativamente elevados de LDH2 y LDH3 respectivamente, asociados significativamente con una sobrevida libre de progresión y sobrevida global más corta. La isoenzima LDH3 se mantuvo como un factor pronóstico de sobrevida cuando se consideraron solo los pacientes con LDH total sérica elevada al momento del diagnóstico.

Otros investigadores (24,25) analizaron el perfil de las isoenzimas de LDH y su valor pronóstico en pacientes con diferentes malignidades hematológicas. Los pacientes con LNH mostraron niveles elevados de la isoenzima LDH3 y porcentajes de LDH2 como factores pronósticos de una menor sobrevida global. En el análisis multivariado, el incremento de los valores de LDH3, los altos porcentajes de LDH2 y el estado funcional, pero no la LDH total, fueron factores independientes de la sobrevida. Los valores aumentados de la isoenzima 3 fueron predictivos de muerte temprana en los pacientes con LNH. El análisis del perfil de isoenzimas de LDH mostró porcentajes incrementados de LDH2 en los pacientes con LNH, leucemia linfoide crónica y síndromes mieloproliferativos, pero no en los pacientes con mieloma múltiple o enfermedad de Hodgkin.

Por otra parte, los estudios in vitro sobre la actividad del perfil de las isoenzimas de LDH en linfocitos humanos B y T , en reposo y activados, indicaron una mayor relación con el estado de activación celular que al fenotipo(26) y los cambios en la actividad intracelular de la LDH y sus isotipos (H y M) se asociaron con la inducción de apoptosis y alteración de la membrana celular en células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de pacientes con linfoma, mostrando la actividad de las isoenzimas de LDH como indicador de alteraciones celulares y metabólicas, así como de marcador pronóstico (26-29).

Los estudios sobre la actividad de las isoenzimas de LDH en LNH son escasos, de allí surge nuestro interés en evaluar su utilidad pronòstica aplicada a población venezolana.

Materiales y Métodos

Población a estudiar

Pacientes

Se evaluaron 67 pacientes con diagnóstico de LNH confirmados clínica e histopatológicamente, quienes asistieron a la Consulta de la Comisión de Linfoma en el Instituto de Oncología y Hematología (IOH), MPPS-UCV, durante el periodo 1999-2004, siendo el tiempo promedio del seguimiento de la enfermedad de 30 meses (rango 3-48 meses). El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del IOH.

Los factores pronósticos clínico-patológicos comprendieron: sexo, edad, histología del tumor (Clasificación OMS)(30), estadio clínico (Clasificación ANN ARBOR modificada en Costwolds)(31), síntomas B (fiebre, sudoración nocturna y pérdida de peso), estado funcional escala Karnofsky(32), número de regiones ganglionares, afectación extraganglionar, enfermedad voluminosa, compromiso de médula ósea, compromiso abdominal, actividad de LDH sérica y grupos de riesgo de acuerdo al IPI(5). Con fines pronósticos se clasificaron en linfomas agresivos y linfomas indolentes (1-4).

- Criterios de inclusión: Pacientes con

diagnóstico de LNH, confirmado clínica e histopatológicamente, que no hayan recibido tratamiento previo para la enfermedad, VIH negativo.

- Criterios de exclusión: Pacientes con enfermedades asociadas tipo diabetes, insuficiencia renal y otras.

Tratamiento y evolución clínica

Los pacientes se trataron con esquemas de primera línea establecidos internacionalmente para LNH (31,33) y el seguimiento clínico de los pacientes se evaluó de acuerdo a los siguientes criterios:

- Remisión completa (RC): Se define como la desaparición de todas las manifestaciones clínicas y signos de la enfermedad, con normalización de las alteraciones radiológicas y de los datos bioquímicos que fueron anormales antes de iniciar la quimioterapia. Una vez finalizado el tratamiento, la respuesta se mantendrá, al menos 3 meses. En caso de infiltración de la médula ósea, la desaparición de la enfermedad morfológica/histológica, deberá ir unida a normalización de las cifras hematológicas periféricas (> 12 g/dl de Hemoglobina, > 100.000 plaquetas /mm^3 y >1.500 granulositos/mm3).
- Remisión completa incierta (RCi): Se define como la desaparición de todos los síntomas y casi todas las masas medibles en dos diámetros (reducción en más del 75% por TAC) pero con persistencia de anomalías radiológicas por ese método (radiología o tomografía). Sin embargo, la Gammagrafía por Galio o el PET-scan deberán ser negativos.
- Remisión parcial (RP>50%): Remisión parcial se define como una reducción del 50% o más de la enfermedad medible durante al menos 1 mes. Debe haber ausencia de citopenias periféricas.
- Enfermedad estable (EE): Regresión en términos de enfermedad medible inferior al 50%, sin nuevas manifestaciones y si hay progresión, esta será menor del 25%.
- Fracaso y/o progresión (F): Aumento en la frecuencia o en la severidad de los síntomas, o aparición de nuevas áreas afectadas, o progresión de más de un 25% en las localizaciones tumorales iniciales.
- No respuesta: No variación de las manifestaciones clínicas y signos de la enfermedad inicial con el tratamiento aplicado.
- Sobrevida global (SG): Es el tiempo transcurrido desde que se hace el diagnóstico y se inicia o no un tratamiento hasta la muerte ocasionada por la enfermedad inicial que se está evaluando o hasta la fecha del último control.
- Sobrevida libre de enfermedad (SLE): Es el tiempo transcurrido entre la fecha de RC y la nueva aparición de síntomas y signos de enfermedad (recaída).
- Sobrevida libre de falla al tratamiento: Es el tiempo transcurrido desde que se inicia el tratamiento hasta la recaída o muerte.

Grupo Control

Para la determinación de los valores de referencia de la LDH total sérica e isoenzimas de LDH en la población venezolana se procesaron 122 muestras de controles provenientes de donantes de Banco de Sangre e individuos aparentemente sanos.

Muestras

Se realizó una sola toma por paciente al momento del diagnóstico, antes de iniciar el tratamiento. Las muestras de sangre sin anticoagulante se obtuvieron por punción venosa y se centrifugaron a 2500 rpm durante 10 minutos a 20°C para la obtención del suero respectivo. Para la determinación de la LDH total e isoenzimas de LDH, los sueros se conservaron a la temperatura de 15-30°C ó 2-6°C hasta 48 horas, dada la inestabilidad de las fracciones y la sensibilidad de las mismas a la temperatura de congelación.

Lactato deshidrogenasa (LDH):

Método LDH-L cinético UV (Invelab Catálogo N° 89289). Valores de referencia: 80-285 U/L

Isoenzimas de LDH:

La determinación cualitativa y cuantitativa de las isoenzimas de LDH se realizó aplicando el método de electroforesis en gel de agarosa, según el procedimiento del sistema Helena Titán Gel (Helena Laboratorios Catálogo N° 3043). Este método provee mayor información que otros, porque permite la separación de las cinco fracciones de LDH sin riesgo de superposición de las mismas. El medio de soporte utilizado incluyó acetato de celulosa, agar agarosa y geles de acrilamida.

El fundamento de la determinación de las isoenzimas de LDH se basó en la separación de acuerdo a su movilidad electroforética en gel de agarosa. Posteriormente cada isoenzima es detectada colorimétricamente, mediante la reducción de la sal tetrazolium con la formación de una coloración formasan. La evaluación cualitativa se realizó mediante la visualización de las bandas y la evaluación cuantitativa mediante la lectura de la placa e integración de las bandas en un densitómetro a 590 nm. (Densitómetro Helena Scan 2 (Cat N° 1260), para lo cual se introdujo el valor de LDH total sérica para calcular los valores absolutos y porcentuales de las isoenzimas. La interpretación del patrón de isoenzimas de LDH se realizó en conjunto con el valor de la actividad de LDH total sérica.

Valores de referencia: La Tabla 1 presenta los rangos referenciales correspondientes al patrón de isoenzimas de LDH, expresados en valores absolutos y porcentuales, determinados en el grupo de controles sanos (n=122), con edades comprendidas entre 18-74 años, de los cuales 60 (49%) fueron de sexo femenino y 62 (51%) de sexo masculino.

Tabla 1. Valores de referencia de los niveles séricos de las isoenzimas de LDH en el grupo de controles sanos.

Variables (n = 122)	Rango U/L	Rango (%)
LDH Total	80 - 285	
Isoenzimas LDH		
LDH1	18.4 – 71.7	18.6 – 47.7
LDH2	28.1 – 90.1	26.2 – 47.9
LDH3	14 – 47.5	11.6 –27.2
LDH4	3.1 –19.2	2.8 – 13.5
LDH5	2.3 –17.2	2.0 – 12.5

LDH: Lactato Deshidrogenasa

Análisis estadístico

Se aplicaron los programas estadísticos Statgraphics Statistical, Graphics Systems Versión 6 y Graphpad Software V2 05ª Basic Statistics. Se estableció el nivel de significancia p=0,05.

Se realizaron los siguientes análisis estadísticos.

- Análisis exploratorio de los datos (EDA): Histograma de frecuencia para evaluar la distribución de la normalidad de los datos.
- Análisis no paramétrico: Prueba de U Mann Whitney para comparar el comportamiento de una variable entre dos grupos, expresado por el valor de la Mediana.
- Análisis univariado de la sobrevida: Prueba de Log Rank
- Curva de sobrevida: Método de Kaplan Meier
- Análisis multivariado: Regresión de Cox.

Resultados

Características clínico-patológicas y biológicas de los pacientes con LNH

Se evaluaron 67 pacientes con edades comprendidas entre 18 a 79 años (Mediana 55 años), siendo el tiempo promedio de seguimiento de la enfermedad de 30 meses (rango 3-48 meses). Las Tablas 2 y 3 presentan las características clínico-patológicas de los pacientes al momento del diagnóstico, antes de iniciar el tratamiento. Según los factores pronósticos adversos, la enfermedad incidió en 39(58%) pacientes del sexo masculino y 21(31%) mayores de 60 años. De acuerdo a las categorías pronósticas, 49(73%) presentaron LNH agresivos, que comprenden histológicamente a los linfomas de intermedio y alto grado de malignidad, (difuso de células grandes tipo B, células del manto, parecido al Burkitt, células grandes anaplásicas T, células T periféricas e inmunoblástico) y 18(27%) correspondieron a LNH indolentes, histológicamente de bajo grado de malignidad y crecimiento lento (folicular, linfocítico pequeño, tipo maltoma y micosis fungoides). De la población estudiada, 40(60%) presentaron estadio clínico III - IV (enfermedad avanzada), 6(9%) estado funcional alterado (Karnofsky <70%), 44(66%) enfermedad extranodal en más de un área y enfermedad voluminosa > de 10 cm. y 20(30%) presentaron más de 4 áreas ganglionares. La presencia de síntomas B, el compromiso de médula ósea y la enfermedad abdominal se detectaron en 29(43%), 14(21%) y 40(59%) de los pacientes respectivamente.

Tabla 2. Características clínico-patológicas de los pacientes con Linfoma no Hodgkin

Características	N	(%)
Edad (mediana 55, rango 18-79 años)		
≤ 60 años	46	(67)
> 60 años	21	(33)
Sexo		
Masculino	39	(58)
Femenino	28	(42)
Categorías pronósticas		
Agresivos	49	(73)
Indolentes	18	(27)
Estadio Clínico		
I-II	27	(40)
III-IV	40	(60)
Estado funcional Karnofsky		
< 70%	6	(9)
≥ 70%	61	(91)
Enfermedad extraganglionar		
≤ 1	23	(34)
> 1	44	(66)
Síntomas B		
Ausente	38	(57)
Presente	29	(43)
Nº regiones ganglionares		
0-4	47	(70)
>4	20	(30)
Enfermedad voluminosa		
≤10 cm	23	(34)
> 10 cm	44	(66)
Compromiso de médula ósea		
Ausente	53	(79)
Presente	14	(21)
Enfermedad abdominal		
Ausente	27	(41)
Presente	40	(59)
Índice Pronóstico Internacional (IPI)		
Bajo riesgo	60	(90)
Alto riesgo	7	(10)
N° Total	67	(100)

Tabla 3. Clasificación de los pacientes con LNH de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud.

Variables	N° de pacientes	(%)
Histología (OMS)		
Difuso de células grandes	40	(60)
Células del Manto	1	(1)
Parecido al Burkitt	1	(1)
Células grandes anaplásicas T	3	(5)
Células T periféricas	2	(3)
Inmunoblástico	2	(3)
Folicular	8	(12)
Linfocitico pequeño	6	(9)
Tipo maltoma	2	(3)
Micosis fungoides	2	(3)
N° Total	67	(100)

LNH: Linfoma No Hodgkin
OMS: Organización Mundial de la Salud

De acuerdo al Índice Pronóstico Internacional (IPI), el 90% de los linfomas fueron de bajo riesgo, incluyendo los de bajo riesgo y riesgo intermedio bajo, mientras que el 10% de los linfomas fueron de alto riesgo, agrupando a los de riesgo intermedio alto y alto riesgo.

El 60% de los linfomas correspondió al tipo histológico difuso de células grandes tipo B (LDCGB) y el 12% de los pacientes presentaron el tipo folicular, el resto de los subtipos comprendieron el 28% de la población estudiada.

Respecto a la LDH, 9(13%) presentaron valores anormales, siendo el criterio de anormalidad los valores de la actividad enzimática por encima del 100% del límite superior del rango de referencia (80-285 U/L), de acuerdo a lo establecido en el IPI (5) para los pacientes con LNH.

Los pacientes presentaron valores absolutos de las isoenzimas LDH1, LDH2, LDH3, LDH4, LDH5 significativamente elevados en 25(37%), 29(43%), 32(48%), 20(39%) y 11(16%) de los casos respectivamente en base a los valores de referencia obtenidos (Tabla 4).

Patrón de las isoenzimas de LDH de acuerdo a las categorías pronósticas en los pacientes con LNH

Tabla 4. Niveles séricos de LDH total y perfil de isoenzimas de LDH en pacientes con LNH.

Variables	N	(%)	M	Rango	*p
LDHT (U/L)					
≤ 570	58	(87)	186	(83-556)	<0.0001
> 570	9	(13)	879	(580-1371)	
LDH1 (U/L)					
≤ 71.7	42	(63)	43	(4.5-65	<0.0001
> 71.7	25	(37)	95	(76.9-596)	
LDH2 (U/L)					
≤ 90.1	38	(57)	55	(24.1-87)	<0.0001
> 90.1	29	(43)	163	(106.9-535)	
LDH3 (U/L)					
≤ 47.5	35	(52)	29	(16.1-44.1)	<0.0001
> 47.5	32	(48)	87	(47.6-394.2)	
LDH4 (U/L)					
≤ 19.2	41	(61)	11	(4.2-19.0)	<0.0001
> 19.2	20	(39)	31	(20.5-260.6)	
LDH5 (U/L)					
≤ 17.2	56	(84)	8.4	(3.9-16.1)	<0.0001
>17.2	11	(16)	22	(18-86.5)	

M: Mediana N: n° de pacientes (%): Frecuencia
p significativa = 0,05 LNH: Linfoma No Hodgkin
p*: U Mann-Whitney LDH: Lactato deshidrogenasa

Se comparó la actividad de la LDH total y las isoenzimas de LDH entre los grupos de pacientes con LNH agresivos y LNH indolentes (Tabla 5). No se obtuvieron diferencias significativas en la actividad tanto para la LDH total como para el patrón de las isoenzimas expresada en valores absolutos (U/L) entre los tipos de linfomas. En valores porcentuales la distribución de la isoenzima LDH4 fue significativamente superior (p= 0.01) en el grupo de pacientes con linfomas agresivos en comparación con el grupo de los linfomas indolentes.

Evolución clínica de los pacientes con LNH

Se evaluaron 67 pacientes con un tiempo promedio de seguimiento de 30 meses (rango 3 – 48 meses), de los cuales 27(40%) entraron en remisión completa, 12(19%) y 17(25%) presentaron remisión parcial <50% y >50% respectivamente y se registró una respuesta global (RC+RP) de 56(84%) de los casos. La progresión de la enfermedad se registró en 11(16%) de los casos y 24(36%) fallecieron.

Análisis de la sobrevida de los pacientes con LNH en relación al perfil de las isoenzimas de LDH

Aplicamos el análisis univariado de la sobrevida en relación al perfil de las isoenzimas de LDH tanto al grupo total de los pacientes como a las categorías pronósticas (Tabla 6). En el grupo total observamos una disminución significativa de la sobrevida global asociada a valores absolutos elevados de LDH1 (>71.7U/L) comparados con el grupo de pacientes que presentaron actividad normal de la isoenzima (≤71.7U/L) (Figura 1). Posteriormente, se investigó el valor pronóstico de las isoenzimas de LDH en el grupo de los pacientes que presentaron valores normales de LDH total (≤570 U/L), según el criterio del IPI. Los resultados obtenidos (Figura 2) mostraron que en presencia de niveles normales de LDH total, los pacientes con valores absolutos elevados de LDH1 (>71.7 U/L) presentaron significativamente una menor probabilidad de sobrevida que el grupo

Tabla 5. Niveles séricos de LDH Total e Isoenzimas de LDH de acuerdo a las Categorías Pronósticas en pacientes con LNH.

Variables	LNH Indolentes N=18		LNH Agresivos N=49		
	(M)	Rango	(M)	Rango	*p
LDHT U/L	244	(121-1371)	203	(83-1217)	0.74
LDH1 U/L	55	(29.3-596)	54	(4.5-251)	0.60
%	27	(7.6-47.7)	23	(9.3-37.7)	0.12
LDH2 U/L	79	(43.5-535)	78	(24.1-432)	0.84
%	39	(24.8-45.5)	40	(26.50.2)	0.34
LDH3 U/L	40	(17.9-362)	48	(16.5-352)	0.64
%	13	(4.6-62.4)	15	(4.6-28.8)	0.55
LDH4 U/L	16	(5.5 -36.5)	16	(4.2-261)	0.31
%	5	(4.2-12.2)	7	(4-21.4)	0.01
LDH5 U/L	8	(4.2-31.5)	9	(4-86.5)	0.23
%	3.8	(0.8-9.4)	4.3	(1.8-20.5)	0.35

p significativa = 0,05
LNH: Linfoma No Hodgkin
U/L: Unidades en valor absoluto
* p : Prueba U Mann-Whitney
M: Mediana
%: Valores porcentuales

Tabla 6. Análisis univariado de la sobrevida global de acuerdo a los niveles de las isoenzimas de LDH en pacientes con LNH.

Variables		Valor Referencia	GRUPO TOTAL (n =67) SG p*	LNH AGRESIVOS (n=49) SG p*	LNH INDOLENTES (n= 18) SG p*
LDH1	U/L	≤71.7 vs.>71.7	0.0064	0.7	0.27
LDH2	U/L	≤90.1 vs.>90.1	0.13	0.9	0.32
LDH3	U/L	≤47.5 vs.>47.5	0.8	0.85	0.36
LDH4	U/L	≤19.2 vs.>19.2	0.7	0.9	0.75
LDH5	U/L	≤17.9 vs.>17.9	0.2	0.25	0.57

LDH: Lactato Deshidrogenasa
p significativa = 0.05
SG: sobrevida global
LNH: Linfoma No Hodgkin
p*: Prueba Log Rank

de pacientes con valores normales de LDH1 (≤71.7 U/L) (p=0,04), sin obtener resultados significativos para el resto de las isoenzimas (datos no mostrados).

Los pacientes con LNH agresivos presentaron una significativa disminución de la SG (p=0,048) asociada con niveles elevados de LDH total (Figura 3). En la Figura 4 observamos que los pacientes con LNH agresivos con IPI de alto riesgo presentaron una menor probabilidad de sobrevida global en comparación con los de IPI bajo riesgo (p=0,0013).

Respecto a los pacientes con LNH indolente, los niveles elevados de LDH total se asociaron significativamente con una sobrevida global más corta, no obstante, el tamaño de la muestra (n=18) le restó significancia a los resultados (datos no mostrados).

La distribución de los datos (vivos y fallecidos) no permitió realizar el análisis univariado para la SLE.

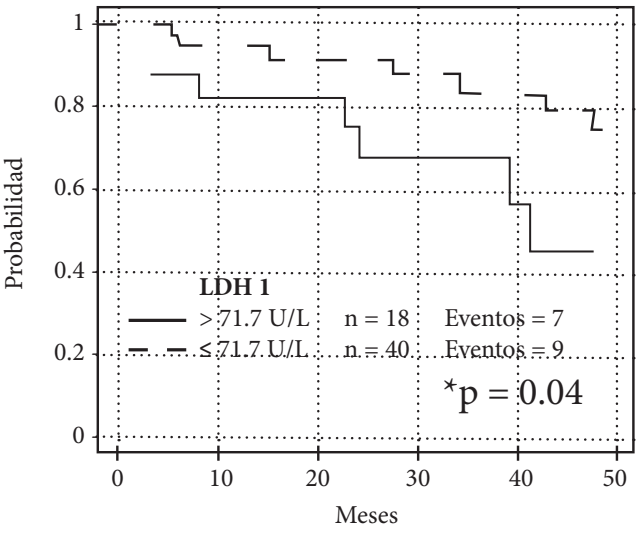


Figura 2. Curva de sobrevida global de acuerdo a los niveles de la isoenzima LDH1 (U/L) en pacientes con valores normales de LDHT (≤570 U/L).

Método Kaplan Meier
*p: Análisis univariado Prueba Log Rank
Tiempo de seguimiento: 3 a 48 meses
LDH: Lactato deshidrogenasa
LNH: Linfoma No Hodgkin
p significativa = 0.05
N: Número pacientes
Eventos: Fallecidos

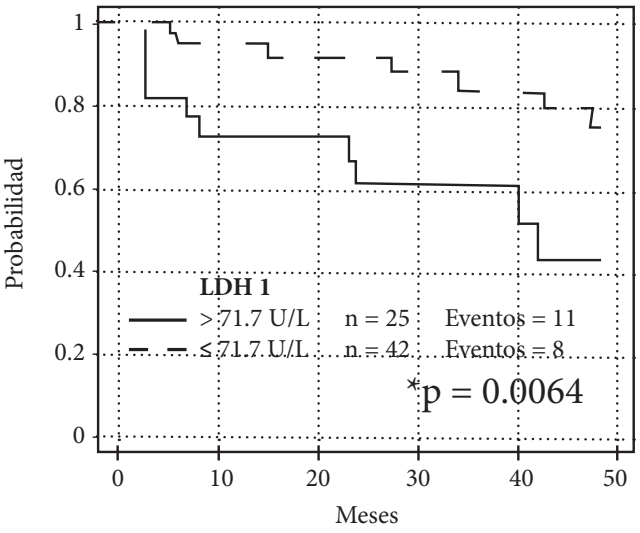


Figura 1. Curva de sobrevida global de acuerdo a los niveles séricos (U/L) de la isoenzima.

LDH1 en el grupo total de pacientes con LNH
*p: Análisis univariado Prueba Log Rank
Tiempo de seguimiento: 3 a 48 meses
LDH: Lactato deshidrogenasa
LNH: Linfoma No Hodgkin
Método Kaplan Meier
p significativa = 0.05
N: Número pacientes
Eventos: Fallecidos

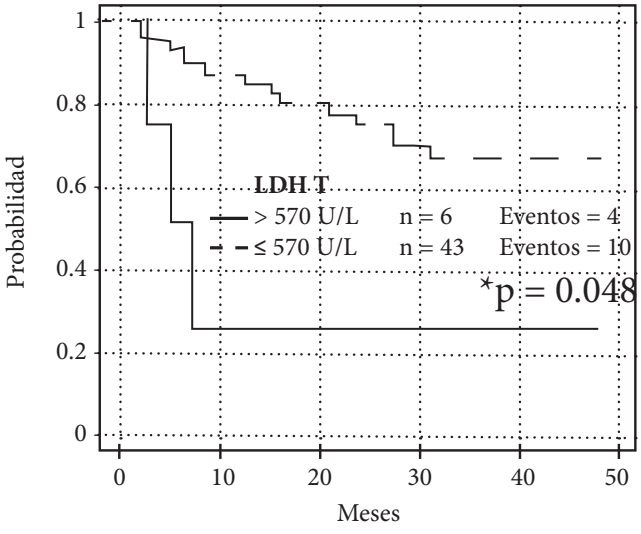


Figura 3. Curva de la sobrevida global de acuerdo a los niveles de LDH Total en pacientes con LNH agresivos.

LDH1 en el grupo total de pacientes con LNH
*p: Análisis univariado Prueba Log Rank
Tiempo de seguimiento: 3 a 48 meses
LDH: Lactato deshidrogenasa
LNH: Linfoma No Hodgkin
Método Kaplan Meier
p significativa = 0.05
N: Número pacientes
Eventos: Fallecidos

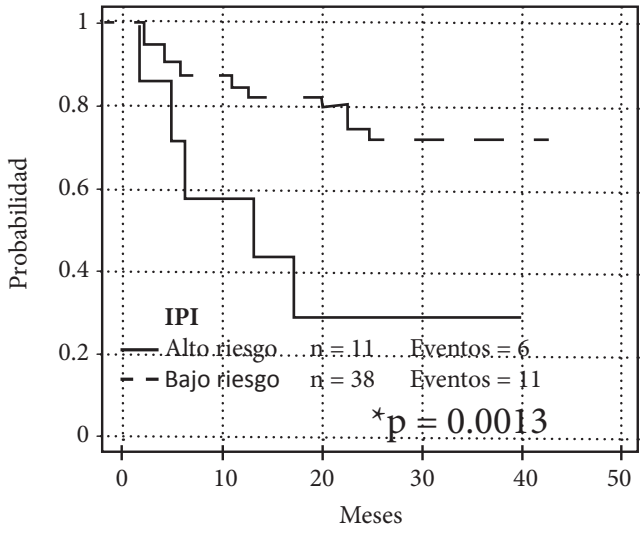


Figura 4. Curva de la Sobrevida global de acuerdo al IPI en pacientes con LNH agresivos.

IPI: Índice Pronóstico Internacional.
*p: Análisis univariado Prueba Log Rank
Tiempo de seguimiento: 3 a 48 meses
LDH: Lactato deshidrogenasa
LNH: Linfoma No Hodgkin
Método Kaplan Meier
p significativa = 0.05
N: Número pacientes
Eventos: Fallecidos

En el análisis multivariado, tanto la significancia pronóstica de la LDH total (p= 0.04) como la del IPI (p= 0.008), demostraron ser estadísticamente independientes de la sobrevida (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis multivariado de la sobrevida global en pacientes con LNH agresivos

Variables	Condición	SG (p*)
LDHT	≤570 U/L vs. >570 U/L	0.04
IPI	Bajo riesgo vs. Alto riesgo	0.008

p significativa = 0.05
LDH: Lactato Deshidrogenasa
LNH: Linfoma No Hodgkin
p*: Regresión de Cox.
SG: Sobrevida global
IPI: Índice Pronóstico Internacional

Discusión

En el presente estudio se evaluaron 67 pacientes con LNH, de primera consulta, siguiendo las pautas internacionales establecidas para el abordaje de la enfermedad. Se determinaron los marcadores pronósticos clinicopatológicos y biológicos al momento del diagnóstico, antes de iniciar el tratamiento y se categorizaron en grupos de riesgo según el IPI para la aplicación del tratamiento.

En relación a los factores clínico–patológicos adversos, nuestros resultados coinciden con los reportes internacionales (1-4, 31,33). En este sentido, se observó una mayor incidencia en el sexo masculino, el tipo histológico más frecuente fue el LDCGB, el más común de los linfomas agresivos, seguido del linfoma folicular, el más común de los linfomas indolentes. De acuerdo a las categorías pronósticas predominaron los linfomas agresivos sobre los indolentes. No obstante, respecto a la edad, en nuestro estudio la mayor frecuencia de la enfermedad incidió en el grupo etario menor de 60 años, a diferencia de lo reportado en la literatura, según la cual la incidencia incrementa con la edad y representa un factor pronóstico independiente e importante ya que va asociado con una mayor morbimortalidad (1-5,8), en tal sentido el tamaño de la muestra ha podido influir en la incidencia etaria.

En relación a los modelos pronósticos, el IPI en los últimos años, dado su elevado valor predictivo, ha sido de utilidad en los diferentes tipos de LNH, tanto agresivos como indolentes (5,6) y más recientemente a partir del año 2004, se ha propuesto la aplicación del FLIPI para los linfomas foliculares (34) y el R-IPI para los linfomas agresivos (35). En tal sentido, los pacientes evaluados en el estudio correspondieron al período 1999-2004 y para la categorización en grupos de riesgo se aplicó el IPI para todos los grados de malignidad, así la mayoría 60(90%) correspondió al grupo de bajo riesgo (riesgo bajo e intermedio bajo) y solo 7(10%) de alto riesgo (intermedio alto y alto riesgo).

El valor sérico de la LDH es uno de los factores pronósticos independientes que mayor información aporta en los diferentes tipos de LNH, hasta el punto que actualmente es considerado como dato imprescindible para definir el pronóstico de un paciente. El 13% de los pacientes cursaron con alteración de la actividad de LDH (> 570 U/L), en base a una actividad enzimática mayor del 100% del valor superior del rango de referencia según el criterio establecido en el IPI(5), este bajo porcentaje pudiera estar influenciado por el tamaño de la población estudiada.

En la práctica clínica los LNH se clasifican en

linfomas agresivos y linfomas indolentes. Esta categorización está basada en las características histomorfológicas del tumor, así como la velocidad del crecimiento tumoral, determinando las diferencias en cuanto a la evolución de los pacientes y en la toma de decisiones terapéuticas (36). Cuando comparamos el perfil de isoenzimas de LDH entre las categorías pronósticas solo detectamos cambios significativos en el patrón de LDH4, cuyo porcentaje elevado se asoció con los linfomas agresivos, coincidiendo con los resultados de Ricerca y col. (22). Dumontet y col. (23) reportaron una mayor frecuencia de niveles incrementados de la isoenzima LDH3 asociados con los linfomas agresivos. Las alteraciones en el patrón de expresión de la LDH4 han sido asociadas más frecuentemente a patologías malignas y nos indicaría una tendencia hacia una actividad metabólica anaeróbica del tumor, aun cuando la LDH3 sea la de mayor frecuencia en los órganos linfoides (19). Por otra parte, los anteriores autores (23) compararon los valores de frecuencia y en nuestro caso comparamos la actividad enzimática, tanto en valor absoluto como en porcentaje. Los estudios de Jurisic y col. (26) sobre las alteraciones de la actividad de la LDH total y su perfil isotípico en CMSP de pacientes con LH y LNH, señalaron un incremento de la LDH intracelular y del isotipo M, así como la asociación de los valores de la LDH liberada espontáneamente con la progresión de la enfermedad y el grado de malignidad tumoral en los pacientes con LNH. La elevación de la actividad de la LDH se debió al predominio de la forma isotípica M más que la H. También demostraron una correlación positiva entre la actividad de la LDH total liberada espontáneamente por las células y el nivel de la LDH total sérica, siendo que la elevación de la LDH espontánea precede al incremento de la LDH total sérica en ambas enfermedades. Estos autores evidenciaron alteraciones intracelulares metabólicas en las CMSP de los pacientes con LNH. El aumento de la LDH estaría asociado a una cascada de activación programada durante el proceso de la activación linfocitaria. Además de las alteraciones intracelulares, la actividad isotípica y la LDH total liberada espontáneamente fueron dependientes del grado de malignidad histológica y de la expansión tumoral en los pacientes con LNH. Recientemente, en otro trabajo se evidenció que la liberación espontánea de la LDH se produce previamente al incremento de la LDH sérica y los niveles de la LDH liberada espontáneamente fueron significativamente superiores en los LNH tanto en estadios tempranos como en los avanzados respecto a los controles sanos(28).

En el presente trabajo nuestro principal hallazgo refleja las alteraciones del comportamiento del perfil de las isoenzimas de LDH en los pacientes con LNH al momento del diagnóstico y su significancia pronóstica. Valores absolutos incrementados de la isoenzima LDH1 (>71.7U/L) resultaron predictivos de una sobrevida global más corta en el grupo total de los pacientes con LNH, no obstante perdió la significancia cuando el análisis se realizó para las categorías pronósticas, esto probablemente influenciado por la heterogeneidad histológica del tumor y el tamaño de la muestra. Por otro lado, también observamos que la distribución del perfil de las isoenzimas entre las dos categorías tampoco mostró diferencias significativas.

Es también interesante observar que la LDH1 mantuvo su valor pronóstico aun cuando se consideró el grupo de pacientes con los valores normales de LDH total considerados en el estudio (≤570 U/L). A diferencia de nuestros resultados, Dumontet y col. (23) y Bouaifa y col (24) reportaron los incrementos en el porcentaje de LDH2 y el valor absoluto de LDH3 asociados a una menor sobrevida global, sugiriendo la posibilidad de que el incremento de los valores de la LDH3 reflejen la masa tumoral en pacientes con LNH y la LDH2 bien pudiera ser producida por el propio tumor o como respuesta del paciente frente a la enfermedad. En relación al análisis univariado para la SLE, la distribución de la muestra y el número limitado de pacientes, fueron limitantes para su determinación, incidiendo tanto para la LDH total como para las isoenzimas de LDH.

La literatura es consistente sobre la aplicación de la isoenzima LDH1 como marcador tumoral en los tumores de células germinales, siendo su utilidad en el estadiaje, predicción del pronóstico y monitoreo en pacientes con cáncer testicular. A su vez la clasificación de sus niveles en tres rangos de valores (normales, elevados y muy elevados) tiene implicaciones pronósticas para los pacientes con tumores metastásicos de células germinales del testículo. Una serie de reportes sugieren su preferencia sobre la LDH total como marcador de rutina, no obstante, aún no se han establecido los lineamientos sobre el uso rutinario de la

LDH1 como marcador tumoral en los pacientes con este tipo de tumor (37,38). Las diferencias en el patrón de isoenzimas de LDH pueden ser explicadas debido a las aberraciones genéticas en la transformación maligna de las células germinales del testículo. El incremento de la LDH1 sérica en los pacientes con esta neoplasia se ha asociado con el número elevado de copias del brazo corto del cromosoma 12 (12p). La relación entre 12p y LDH1 sérica en los tumores de células germinales de testículo explicaría su significancia pronóstica, a diferencia de la LDH5 sérica que no presenta alteraciones (38).

Recientemente otros autores han reportado niveles séricos de LDH-B (H) en pacientes con cáncer de pulmón (no de células pequeñas). Los niveles de LDH-B se determinaron por ELISA y resultaron significativamente elevados en comparación con los pacientes que presentaron enfermedades benignas del pulmón, controles sanos y otros tipos de cáncer (prostático, esófago y laringe) y, además, sus niveles se incrementaron progresivamente con el estadio clínico, sugiriendo que los niveles de LDH-B pudieran asociarse con el cáncer de pulmón (39).

En LNH no se han descrito alteraciones cromosómicas asociadas con las isoenzimas de LDH. Por otra parte, se ha descrito la modulación de las isoenzimas de LDH por efecto de la base modificada queuina en tejidos de ratones normales y cancerosos con tumor ascítico de linfoma de Dalton (DLA) que corresponde a un linfoma de células T. El tratamiento con queuina produce una disminución de las isoenzimas anaeróbicas A4 (M4) de LDH, sugiriendo que la queuina suprime la vía glucolítica anaeróbica conduciendo a la supresión tumoral en los ratones DLA (40). En los mamíferos la base libre q o Q-tRNA podría estar involucrada en la regulación adaptativa del metabolismo glicolítico en condiciones anaeróbicas o aeróbicas. El incremento de la expresión de LDH-A (M) regulada por C-Myc ha sido bien documentada en una variedad de células tumorales incluyendo fibroblastos y linfoma de Burkitt. La elevación en la actividad de LDH y los niveles de los productos de los oncogenes c-Myc y c-Fos pudieran conducir a la promoción de malignidad, así se observó que en los ratones DLA la actividad de LDH y los niveles de c-Myc y c-Fos fueron regulados negativamente por la base modificada queuina (41).

Por su parte, Pan y col. (42) proveen evidencias de una significativa asociación entre el incremento de la actividad celular de las isoenzimas de LDH y la actividad proliferativa celular, examinando la expresión de las isoenzimas de LDH tipo H y M por métodos inmunohistoquímicos en células linfoides en reposo y activadas, representando diferentes estadios del ciclo celular, así como la expresión de las isoenzimas en una variedad de células linfoides. Al determinar la expresión de los isotipos H y M observaron que las células provenientes de las leucemias linfocítica y prolinfocítica, morfológicamente similares a los linfocitos normales, mostraron un patrón similar al de los linfocitos B en reposo, mientras que los linfoblastos de la leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B de alto grado y líneas celulares transformadas, mostraron un patrón similar al de linfocitos T o B activados. Estos resultados demuestran una significativa correlación ente la expresión de LDH y la actividad proliferativa de las células y pudieran explicar por qué la actividad de la LDH sérica en pacientes con malignidades es útil para la predicción de la extensión de la enfermedad y la respuesta a la terapia.

Otros estudios in vitro, reportaron una actividad elevada de LDH-M en CMSP de pacientes con LNH, previo a la administración de quimioterapia, la cual no disminuyó después del tratamiento de estas células con TNF-α, mostrando efectos opuestos en comparación con las CMSP de controles sanos. La determinación del isotipo de LDH pudiera ser un parámetro de utilidad para la diferenciación o activación celular. En células neoplásicas o células linfoides transformadas, la LDH–H ha sido reportada como un marcador de diferenciación progresivamente expresado durante la maduración de células T y de la diferenciación terminal de líneas celulares mieloides, pero más relacionado a la proliferación celular que a la especificidad con algún tipo de malignidad (28).

En el presente trabajo la elevada actividad de la isoenzima LDH1 se expresó como un factor pronóstico adverso de la sobrevida global, probablemente como expresión de una elevada actividad proliferativa del tumor. Así, ya hemos mencionado que el patrón LDH1>LDH2 puede también observarse en pacientes con cáncer y las isoenzimas LDH1, LDH2 y LDH3

pudieran ser marcadores importantes en discrasias hematológicas y otras malignidades (14). Las elevaciones de LDH en los desórdenes hematológicos se relacionan primariamente con la capacidad proliferativa del tumor, probablemente siendo el origen de la enzima proveniente de los propios leucocitos neoplásicos y del tejido circundante (28). La LDH refleja la disrupción de la membrana celular de una importante fracción de células malignas en división , siendo posible que la LDH liberada espontáneamente de las CMSP también contribuyan al nivel sérico de la misma, esto soportado por la hipótesis de que la LDH pudiera provenir de fuentes no tumorales (29). La regulación de las subunidades de LDH es multifactorial (hipoxia, proteín- quinasas, hormonas, factores de crecimiento, nucleótidos), siendo probable también la participación de las citoquinas inflamatorias (16,23).

Los resultados obtenidos respecto al valor pronóstico de los niveles séricos de la LDH en el análisis de la sobrevida global son consistentes con la literatura (5,12,31,33) ya que se asociaron con una menor probabilidad de sobrevida global, tanto en los pacientes con LNH agresivo como indolente, a pesar del bajo número de pacientes en la categoría indolente e igualmente, se confirmó su significancia como marcador pronóstico independiente en el análisis multivariado de la sobrevida.

Respecto al IPI, confirmamos su valor pronóstico establecido en la literatura como modelo predictivo para los LNH agresivos (5,12) y se categorizaron cuatro grupos de riesgo que luego se agruparon en bajo riesgo y alto riesgo para poder reunir un mayor número de pacientes en los análisis estadísticos. Así observamos las diferencias significativas en el análisis univariado de la sobrevida global entre los grupos de bajo riesgo y alto riesgo y también su valor pronóstico independiente en el análisis multivariado de la sobrevida en el grupo de los pacientes con LNH agresivos. Si bien el IPI es válido para todos los subtipos de LNH (6), en nuestro estudio el análisis de la SG en los pacientes con LNH indolentes no mostró significancia pronóstica, probablemente influenciado por el tamaño de la muestra (datos no mostrados).

El IPI ha sido de utilidad en la predicción de la evolución de los pacientes tanto con linfomas agresivos como los de bajo grado de malignidad (10). Desde 1970, el tratamiento estándar para el linfoma difuso de células B ha sido el CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona) y basados en el IPI se clasificaron los cuatro grupos de riesgo con su respectiva sobrevida (5). Con el advenimiento de nuevas estrategias de tratamiento, como lo es la adición de rituximab (anti CD 20) al CHOP, se ha mejorado la sobrevida de los pacientes, planteando la necesidad de reevaluar la relevancia de los factores pronósticos utilizados para el IPI, ya que la utilidad de las características clínicas como factores pronósticos es dependiente de la eficacia de un tratamiento específico (35).

Respecto a las isoenzimas, la interpretación de los resultados en valores porcentuales o valor absoluto tiene sus implicaciones, los valores en porcentaje serían el reflejo del desplazamiento o la tendencia de la dirección metabólica, mientras que en valores absolutos obtenemos el valor real de la actividad enzimática, lo cual es importante cuando se comparan los resultados con otros trabajos reportados en la literatura.

Las isoenzimas de LDH pudieran ser marcadores importantes en discrasias hematológicas y otras malignidades, no obstante, la interpretación de sus valores debe hacerse con el entendimiento de que algunas isoenzimas sean indicadores de alteraciones celulares y metabólicas, mientras que otras estén asociadas al pronóstico de la enfermedad (43).

Conclusiones

En el presente trabajo se detectaron alteraciones específicas en el patrón de isoenzimas de LDH que sugieren la relación de la isoenzima LDH4 con la biología del tumor y su actividad proliferativa en LNH agresivos y el valor pronóstico de la LDH1 como factor adverso de la sobrevida en el análisis univariado en el grupo total de los pacientes. Se confirmó el valor pronóstico independiente de la LDH total sérica y la utilidad del IPI.

Es recomendable evaluar las alteraciones del patrón de las isoenzimas de LDH que pudieran complementar el valor pronóstico de la LDH total sérica, considerando poblaciones de mayor tamaño y desarrollar estudios longitudinales asociados

con la respuesta de los pacientes al tratamiento, tanto en LNH como en otras malignidades.

Agradecimientos

Al Profesor Leovigildo García (Profesor Jubilado de la UCV) por la asesoría estadística.

A la Fundación Badán por la colaboración en el financiamiento del estudio estadístico.

Al Grupo Evo-Lab C.A por la donación de los reactivos para Isoenzimas de LDH.

Referencias

1. Fisher RI, Mauch PM, Harris NL, Friedberg JW. Non-Hodgkin Lymphomas. En: Cancer Principles & Practice of Oncology. Vicent De Vita Jr, Samuel Hellman, Steve A Rosemberg. 7th Edition. Lippincott: Williams & Wilkins 2005, capítulo 41-2; 1957-97.
2. Hennessy BT, Hanrahan EO, Daly PA. Non-Hodgkin Lymphoma: An update. The Lancet Oncol. 2004; 5: 341-53.
3. Vose JM, Chiu BC, Cheson BD, Dancey J, Wright J. Update on Epidemiology and Therapeutics for Non-Hodgkin´s Lymphoma. Hematology. 2002(1): 241-45.
4. Chiu B, Weisen B. An update of epidemiology of Non Hodgkin´s Lymphoma. Clin Lymphoma. 2003; 4(3): 161-68.
5. Shipp MA, Harrington DP, Anderson JR, Armitage JO, Bonadonna G, Brittinger G, et al. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's lymphoma Prognostic Factors Proyect. N Engl J. Med. 1993; 329:987-94.
6. Hermans J, Krol ADG, Groningen K, Kluin PhM, Kluin-Nelemans JC, Kramer MH, et al. International Prognostic Index for aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma is valid for all malignancy grades. Blood. 1995; 88 (4): 1460-63.
7. Sehn LH, Berry B, Chhanbhai M, Fitzerald C, Gill K, Hoskins P, et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of autcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. Blood. 2007;109:1857-61.
8. Nicolaides C. Dimou S, Pavlidis N. Prognostic factors in agressive Non-hodgkin´s Lymphomas. The Oncologist. 1998; 3: 189-97.
9. Rabasa MP. Factores pronósticos en los linfomas: Linfomas no Hodgkin y linfoma de Hodgkin. Anales del Sistema Sanitario de Navarra 2001; 24 (suplemento 1) : 141-58.
10. Moore DF, Cabanillas F. Overview of prognostic factors in Non-Hodgkin´s lymphoma. Oncology 1998; 12 (10 suppl 8): 17-24.
11. Morra E. The biological markers of Non-Hodgkin´s Lymphomas: Their role in diagnosis, prognostic assessment and therapeutic strategy. The International Journal of Biological Markers. 1999; 14 (3): 149-53.
12. Montserrat E. Prognostic factors in aggressive lymphoma. The contribution of novel markers. Ann Hematol. 2001; 80: B42 – B44.
13. Huijgen HJ, Sanders GT, Koster RW, Veeken J, Bossuyi P. The clinical value of lactate deshydrogenase in serum: A quantitative review, Eur J Clin Chem. Clin Biochem 1997; 35 (8): 569-79.
14. Schwartz M. Lactic dehydrogenease. An old enzyme reborn as a cancer marker? A.J.C.P. 1991; 96 (4): 441- 43.
15. Dawson DM, Goodfriend ThL, Kaplan N. Lactic dehydrogenases: function of the two types. Scince.1964; 43:929-33.
16. Adams MJ,Buehner M, Chandra SK,Ford GC,Hackert ML,Liljas A, et al. Stucture-function relationships in lactate dehydrogenase. Proc Nat Acad Sci. 1973; 1968-72.
17. Henderson AR. Isoenzymes of lactate dehydrogenase. En: Methods of enzymatic analysis. Enzymes 1: Oxidoreductases, transferases. Bergmeyer; H.V, 3er Ed. Weinhein, Deerfield Beach, Florida, Basel Verlagdreinie. 1984; Vol III.
18. Sun Tsieh. Lactate dehydrogenase bioenzimes. En: Sun Tsieh Editor. Interpretation of protein and bioenzymes patterns in body fluids. USA. Igashun Shoin Medical Publishers, Inc; 1991 p.197-215.
19. Alibert G, Pulignano I, Proietta M, Corvisieri P, De Michelle LV. Lactate dehydrogenase and its isoenzymes in the marrow and peripheral blood from haematologycally normal subjects. Physiol Res. 1997; 46:435-38.

20. Paule B, Frnacoual J, Lindenbaum C, Derrieux C, Russo C, Gerbet D, et al. Lactate dehydrogenase isoenzyme activity in malignant haematologycal diseases. Biomedicine & Pharmacotherapy 1984;38:62-65.
21. Rotenberg Z, Weinberger I, Fuchs Y, Erdberg A, Davidson E, Agmon J. Elevation of serum lactic dehydrogenase levels as an early marker of occult malignant lymphoma. Cancer 1984; 54:1379-81.
22. Ricerca BM, Storti S, Compisi S, Pagano F, Dalla Torre R, Marra A, et al. Serum lactate dehydrogenase Isoenzymes pattern in non Hodgkin's lymphoma. Int J Biol Markers 1988; 3 (4): 237-42.
23. Dumontet C, Drai J, Bienvenu J, Berard EN, Thieblemont C, Bouafia F et al. Profiles and prognostic values of LDH Isoenzymes in patients with non-Hodgkin´s lymphoma. Leukaemia 1999; 13 (65):811-17.
24. Bouafia F, Drai J, Bienvenu J, Thieblemont C, Espinouse D, Salles G, et al. Profiles and prognostic values of serum LDH Isoenzymes in patients with haematopoietic malignancies. Bull cancer 2004; 91 (7-8): E229-40.
25. Coiffier B, Bastion Y, Berger F, Felma p, Bryon PA. Prognostic factors in follicular lymphoma. Sem Oncol. 1993; 20: 89-95.
26. Jurisic V, Konjevic G, Banicevic B, Djuricic B, Spuzic I. Different alterations in lactate dehydrogenase activity and profile of peripheral blood mononuclear cells in Hodgkin's and Non-Hodgkin's lymphomas. Eur J Haematol. 2000; 64:259-66.
27. Jurisic V. Estimation of cell membrane alteration after drug treatment by LDH release. Blood 2003;101(7):2894
28. Jurisic V, Janci´c-Nedeljikov R, Strenovi´c M, Banicevi´c B, Colovic M, et al. The comparison of spontaneous LDH release activity from cultures CMSP with sera LDH activity in Non-Hodgkin's lymphoma patients. Medical Oncology 2004; 21(2): 179-85.
29. Jurisik V, Bumbasirevic V, Konjevic G, Djuricic B, Spuzix I. TNF-α induced changes in LDH isotype profile following triggering of apoptosis in CMSP of Non Hodgkin's lymphoma. Ann Haematol 2004; 3:89-91.
30. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller HK, Vardiman J, et al. World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting. J. Clin Oncol.1999; 17: 3835-49.
31. Feldman AL, Pittaluga S, Jaffe ES. Clasification and Histopatology of the lymphomas. En: Canellos GP, Lister TA, Young B, editors. The Lymphomas. Second Edition. Saunders Elsevier; 2006. p. 2-38.
32. Schag CC, Heinrich RL, Ganz PA. Karnofsky performance status revisited: Reliability, validity and guidelines. J Clin Oncol. : 1984; 2:187-193.
33. Evans LS, Hancock BW. Non Hodgkin lymphoma. Lancet 2003; 382:139-46
34. Solal-Celigny P, Roy P, Colombat P,White J, Armitage JO, Arranz-Saez R, et al. Follicular Lymphoma International Prognostic Index. Blood. 2004; 104 (5): 1258-65.
35. Ngo L, H S-W, L L-C, Tao M, Quek R, Yap S-P, et al. Prognostic factors in patients with diffuse large B cell lymphoma: Before and after the introduction of rituximab. Leukaemia & Lymphoma. 2008; 49(3):462-69.
36. Armitage JO. Staging Non-Hodgkin Lymphoma. Cancer J Clin. 2005; 55:368-76.
37. Von Eyben FE. A systematic review of lactate dehydrogenase isoenzyme 1 and germ cell tumors. Clinical Biochemistry 2001; 34: 441-54.
38. Von Eyben FE. Serum lactate dehydrogenase isoenzyme 1 and relapse in patients with nonseminomatous testicular germ cell tumors clinical stage I. Acta Oncologica 2001, 40(4): 536-40.
39. Chen Y, Zhang H, Xu A, Li N, Liu J, Liu Ch, et al. Elevation of serum L-lactate dehydrogenase B correlated with the clinical stage of lung cancer. Lung Cancer 2006; 54:95-102.
40. Pathak Ch, Vinayak M. Modulation of lactate dehydrogenase isozymes by modified base queuine. Molecular Biology Reports 2005; 32:191-96.
41. Pathak Ch, Jaiswal YK, Vinayak M. Modulation in the activity of lactate dehydrogenase and

level of C-Myc and C-Fos by modified base queuine in cancer. Cancer Biology & Therapy 2008; 7(1):85-91.

42. Pan L, Beverley PC, Isaacson PG. Lactate dehydrogenase (LDH) isoenzymes and proliferative activity of lymphoid cells on immunocytochemical study. Clin Exp Immunol. 1991; 86:240-45.
43. Mazzotta S, Guerranti R, Gozzetia A, Bucalossi A, Bocchia M, Sammassimo S, et al. Increased serum lactate dehydrogenase isoenzymes in ph-negative chronic myeloproliferative diseases: a metabolic adaptation? Hematology 2006; 11(4): 239-44.