

ESTUDIO DE LA LACTATODESHIDROGENASA ACUOSA EN EL DIAGNOSTICO DEL RETINOBLASTOMA

Por J. ALIO SANZ (*)
A. FACI PARICIO (**)
M. CHACON VALLES (***)

RESUMEN ESPAÑOL: Se realiza un estudio de los niveles de actividad de LDH existentes en el humor acuoso de 3 pacientes portadores de una leucocoria supuestamente tumoral, comparándolos con los que presentaban un grupo control de 17 pacientes pediátricos portadores de cataratas, encontrándose un falso negativo en un caso de Retinoblastoma y dos falsos positivos en la muestra control. Los autores insisten en la limitación que esta prueba tiene en el diagnóstico del Retinoblastoma por la posible aparición de estos errores. Se concluye que el estudio de la LDH-acuosa tiene tan solo un valor orientativo en el diagnóstico del Retinoblastoma.

RÉSUMÉ FRANÇAIS: Les niveaux d'activité de LDH ont été déterminés dans l'humour aqueuse de trois patients porteurs d'une leucocorie supposée tumorale et ont été comparé à ceux d'un groupe de dix sept patients enfants porteurs de cataracte. Les résultats montrèrent un faux négatif dans un cas de Retinoblastoma et deux faux positifs dans le group control. Les auteurs arrivent à la conclusion que le valeur de cette méthode pour la détermination du Retinblastoma est limitée parceque de telles erreurs peuvent apparaitre. L'étude de la LDH aqueuse n'a donc qu'une valeur d'orientation dans un tel diagnostique.

ENGLISH SUMMARY: LDH activity was determined in aqueous humour samples from 3 leukocoric eyes with suspected Retinoblastoma. Similar samples were obtained from 17 eyes with infantile cataracts as control group. It is found a false-negative in an eye harbouring a Retinblastoma and two false-positives in the control group. The authors conclude that this method has a limited value in the defferential diagnosis of leukococoria. The finding of abnormally high levels of aqueous LDH activity in an eye only has an orientative value in the diagnosis of Retinoblastoma.

INTRODUCCION:

La lactatodeshidrogenasa es un enzima que participa en el metabolismo glicolítico de la célula, concretamente a nivel del ciclo Embdem-Meyerhoff, donde interviene en la conversión del Piruvato en Lactato. Forma parte pues de la vía metabólica de la glicolisis anaerobia, razón por la cual se encuentra ampliamente distribuida por todos los tejidos del organismo, en particular aquellos de una elevada actividad metabólica.

Además de su localización intracelular, la LDH puede también encontrarse, aunque en mucha menor concentración, en fluidos extracelulares tales como el suero sanguíneo, líquido cefalorraquídeo y humor acuoso (1) (2). La presencia de la LDH en estos fluidos viene condicionada por su paso desde el medio intracelular al extracelular con los detritus procedentes del metabolismo celular o a la muerte de la célula, por lo que sus niveles en estos fluidos aumentan con las elevaciones del metabolismo de los tejidos correspondientes o al producirse fenómenos de necrosis tisular. La LDH que se encuentra en el humor acuoso en condiciones normales tiene su origen principalmente en el endotelio corneal, epitelio cristalino, cuerpo ciliar y retina sensorial (1).

Las células tumorales emplean también en su metabolismo energético la glucosa, de manera semejante a los tejidos normales y desde hace ya tiempo se conoce que diversos tipos de tumores malignos de distintas partes del organismo

se acompañan a lo largo de su evolución de cifras elevadas de LDH en los fluidos circundantes a ellos (2). En 1971 DIAS SHANMUGANTHAN Y RAJARATNAM (3) informaron del hallazgo de niveles elevados de LDH en el humor acuoso (LDH - acuosa) de ojos portadores de retinoblastoma. Tras este hallazgo diversos autores investigaron el posible origen de la presencia del enzima en el humor acuoso de estos ojos, así como las posibles correlaciones clínico-patológicas que pudieran existir entre el tumor y los niveles de LDH en humor acuoso (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10). A lo largo de estos estudios ha podido demostrarse la utilidad de la prueba como criterio diagnóstico de la existencia del retinoblastoma, lo cual unido a su completa inocuidad hacen de ella un valioso auxiliar en el diagnóstico de este tumor. Sin embargo, ocasionalmente han sido descritos falsos positivos y falsos negativos con esta prueba, informándose tanto de casos de retinoblastoma con bajos niveles de LDH acuosa, como de casos aislados de patología ocular no tumoral asociados a tasas elevadas de aquella.

Nosotros hemos realizado el estudio de los niveles de actividad de LDH en el humor acuoso de varios casos de pacientes sospechosos de padecer un retinoblastoma, comparando estos resultados con los obtenidos en una serie de pacientes portadores de diversos tipos de cataratas infantiles, que sirvieron como controles normales. Durante este estudio hemos observado varios casos en los cuales los

resultados de esta prueba hubieran inducido a falsas positividades y negatividades diagnósticas, que son el motivo del presente trabajo.

MATERIAL Y METODOS:

Tres casos de pacientes de 3 meses, 1 año y 2 años de edad respectivamente fueron remitidos a nuestra consulta para estudio por presentar una leucocoria de origen supuestamente tumoral. El más pequeño de ellos (CASO 1) la mostraba desde el nacimiento y asociaba una discreta microftalmía del ojo afecto. Los otros dos (CASO 2 y 3) se trataban de niños previamente normales y sin antecedentes familiares, que habían desarrollado este signo postnatalmente. Todos ellos fueron sometidos a una exploración oftalmológica completa, tras la cual fueron realizadas diversas exploraciones complementarias (Ecografía, teletermografía, dinámica, tomografía axial computadorizada). La muestra de humor acuoso para el estudio de los niveles de LDH fue obtenida mediante paracentesis de la cámara anterior con aguja y jeringa de insulina, en quirófano y bajo narcolespia. En cada caso se extrajeron aproximadamente 0,5 ml de acuoso, no requiriendo la punción realizada para su extracción ningún punto de sutura. Tras la extracción de la muestra se esperó a la reposición espontánea de la cámara anterior antes de sacar a los pacientes del quirófano.

El diagnóstico final fue de retinoblastoma en los casos 2 y 3, que fueron enucleados y de persistencia de vítreo primario hiperplásico en el caso 1, que no fue intervenido quirúrgicamente.

Como muestra control para comparación de los resultados obtenidos en el análisis de los casos portadores de patología supuestamente tumoral, fueron ob-

tenidas muestras semejantes de humor acuoso en 18 casos de pacientes de edades comprendidas entre los 1 y los 10 años que padecían diversos tipos de cataratas, inmediatamente antes de ser sometidos a intervención quirúrgica. Tanto en este grupo control como en los pacientes con supuesta patología tumoral se obtuvieron inmediatamente después de la paracentesis muestras de sangre para el estudio de las tasas de LDH sérica.

Normas generales observadas en todos los pacientes para la obtención de las muestras de humor acuoso fueron el no someter a los globos oculares previamente a la realización de la paracentesis a ninguna maniobra, para evitar la producción de humor acuoso secundario. La paracentesis fue efectuada a nivel de la porción corneal del sector temporal del limbo, a 3 ó 9 horas según se tratara de ojo derecho o izquierdo. Fue prestado gran cuidado en evitar la contaminación de la muestra por sangre, lo cual ocasionaría la detección de niveles falsamente elevados del enzima.

El análisis de las muestras tanto del humor acuoso como de sangre obtenidas en estos pacientes fue realizado por el método de BOEHRINGER-MANNHEIM, habitualmente utilizado en nuestro laboratorio, expresándose los resultados obtenidos en unidades internacionales por litro (u.i/l). Este análisis fue realizado en fresco, dentro de las 24 horas siguientes a su extracción. En ningún caso se efectuó la congelación de la muestra previamente a su estudio por los falsos resultados analíticos a los que esta congelación puede dar lugar (8).

RESULTADOS:

En el CUADRO 1 pueden observarse los datos correspondientes al diagnóstico,

CUADRO I

Estudio de la LDH en humor acuoso: casuística.

| Caso | Edad | Diagnóstico | LDH-Acuoso | Relación |
|------|---------|---------------------------|----------------------------|-----------------------|
| | | | (Unidades Internacionales) | LDH-Acuoso/LDH-Sérica |
| 1 | 3 meses | P.V.P.H. | 173 | 0'73 |
| 2 | 1 año | Retinoblastoma | 90 | 0'18 |
| 3 | 2 años | Retinoblastoma | 1197 | 8'08 |
| 4 | 6 años | Catarata Congénita | 25 | 0'16 |
| 5 | 1 año | Catarata Congénita | 236 | 2'03 |
| 6 | 2 años | Catarata Congénita | 22'5 | 0'19 |
| 7 | 4 años | Catarata Congénita | 113 | 1'15 |
| 8 | 2 años | Catarata Congénita | 197 | 0'84 |
| 9 | 6 años | Catarata Congénita | 25 | 0'19 |
| 10 | 9 años | Catarata Congénita | 10 | 0'1 |
| 11 | 2 años | Catarata Congénita | 25 | 0'24 |
| 12 | 5 años | Catarata Congénita | 15 | 0'20 |
| 13 | 3 años | Catar. Cong. y aniridia | 781 | 4'24 |
| 14 | 4 años | Catar. Cong. y aniridia | 73 | 0'54 |
| 15 | 10 años | Catarata Secundaria | 20 | 0'16 |
| 16 | 3 años | Catarata Traumática | 49 | 0'33 |
| 17 | 10 años | Catarata Traumática | 35 | 0'22 |
| 18 | 4 años | Discisión cápsul. poster. | 30 | 0'3 |
| 19 | 6 años | Discisión cápsul. poster. | 25 | 0'28 |
| 20 | 5 años | Discisión cápsul. poster. | 7 | 0'08 |
| 21 | 3 años | Discisión cápsul. poster. | 30 | 0'42 |

niveles de LDH acuoso y relación LDH acuoso/LDH sérica, de los 21 pacientes incluidos en este estudio. La distribución de las cifras de LDH acuoso en los pacientes de la muestra es representada en la GRAFICA 1. En la GRAFICA 2 se representa la distribución de las cifras de LDH acuoso en función de las existentes en suero.

El grupo de pacientes sin tumor, incluyendo en él al Caso 1 portador de una persistencia de vítreo primario hiperplásico, presentó un nivel medio de LDH en

humor acuoso de $X = 99,5 \pm 173,7$ ui/l, con un amplio rango de valores que oscilaban entre las 7 u.i del caso 20 y las 781 del caso 13. La relación LDH acuoso/LDH sérico osciló entre 0,08 del caso 20 y 4,24 del caso 13, con un índice medio $X = 0,65 \pm 0,96$ ui/l.

Los pacientes con retinoblastoma mostraron actividades de LDH en humor acuoso de 90 u.i en el caso 2 y 1197 u.i en el caso 3, con un índice LDH acuoso/LDH sérico de 0,18/8,08 respectivamente.

El estudio histopatológico de los globos oculares portadores del tumor demostró la existencia de un retinoblastoma tipo endofítico poco diferenciado en ambos casos, con escasa observación de rosetas y focos ocasionales de necrosis. En ambos casos el tumor se extendía hasta ocupar al menos la mitad de la cámara vítrea. En uno de los casos (Caso 3) el tumor desplazaba el cristalino hacia delante, con importante invasión de cámara anterior. El otro paciente (Caso 2) mostraba un tumor de tamaño semejante pero de asiento más posterior, sin llegar a contactar con cristalino, pero con importante siembra vítrea y acúmulos de células tumorales en cámara anterior.

DISCUSION:

En el CUADRO II pueden verse las cifras informadas por diversos autores respecto a los niveles de LDH en humor acuoso en ojos con y sin retinoblastoma. Como puede observarse, en anteriores trabajos sobre el tema han podido encontrarse en ojos sin retinoblastoma cifras de hasta 420 u/100ml, mientras que ocasionalmente ojos portadores de este tipo de tumor han mostrado cifras de tan solo 10 ui/l.

Autores como SWARTZ y HERBST (10) proponen como mejor criterio diagnóstico de la existencia de un retinoblastoma el hallazgo de una relación LDH acuosa/LDH-sérica superior a 1 siendo prácticamente patognomónica de la existencia de este tumor la presencia de un índice superior a 1,5. Sin embargo, otros autores (6) no consiguen demostrar la existencia de una correlación significativa entre los niveles de LDH en suero y en humor acuoso, aunque sí la presencia en el acuoso de ojos portadores de retinoblastoma de niveles significativamente elevados del isoenzima LDH-5 y una relación entre las isoenzimas LDH-5/LDH-1 superior a 5.

Siguiendo pues los criterios de normalidad propuestos en trabajos previos sobre el tema (3) (5) (6) (8) (10) (11), existirían en la presente serie tres posibles errores diagnósticos respecto a los datos ofrecidos por el estudio en el humor acuoso de los niveles de actividad de este enzima.

Así, los casos 5 y 13 constituirían claramente falsos positivos en base a la relación LDH acuoso/LDH sérica. Valorando tan solo las cifras absolutas de LDH acuosa, las existentes en el caso 3 podrían ser consideradas como incluíbles dentro de los márgenes de variabilidad

CUADRO II

Niveles de la LDH-Acuosa en ojos con y sin retinoblastoma

| | | Normal | Retinoblastoma |
|--------|--------|---------------------|-----------------------|
| DIAS | (1971) | 0 - 350 u/100 ml. | 1800 - 3250 u/100 ml. |
| SWARTZ | (1974) | 0 - 70 ui/l. | 135 - 900 ui/l. |
| KABAK | (1975) | 0 - 99 ui/l. | 56 - 1832 ui/l. |
| PIRO | (1978) | — | 10 - 15920 ui/l. |
| DIAS | (1979) | 180 - 420 u/100 ml. | 1460 - 3400 u/100 ml. |
| ALIO | (1982) | 7 - 781 ui/l. | 90 - 1197 ui/l. |

normal que han sido previamente descritos por otros autores (CUADRO II). Las cifras presentadas por el caso 13 se encontrarían sin embargo muy lejos de los límites informados como normales y por lo tanto constituye un falso positivo tanto en términos relativos como absolutos con respecto a los valores de este enzima.

El caso 2 constituye un falso negativo también claro, tanto en lo que se refiere a los niveles de LDH acuoso como en el índice LDH-acuosa/LDH sérica.

En la literatura existen descritos dos casos de retinoblastoma con niveles anormalmente bajos de LDH acuosa (6) (8). Inversamente, niveles anormalmente elevados de este enzima han sido descritos en un paciente de 47 años con embolia de la arteria central de la retina (5), en dos casos de enfermedad de Coats (7) (12) y en dos casos de endoftalmitis (7) (10). En el presente trabajo aparece un falso positivo en un paciente con catarata congénita y aniridia, en ausencia de otro tipo de patología intraocular.

El origen de la LDH presente en el humor acuoso de ojos portadores de un retinoblastoma ha sido atribuido a la liberación de este enzima, procedente de las células tumorales, en el vítreo circundante y su posterior difusión al acuoso. Primitivamente se correlacionó la presencia de este enzima en los casos de retinoblastoma con la existencia de un mayor o menor grado de necrosis en el tumor (10). Sin embargo, estudios posteriores han encontrado que la correlación más significativa con la elevación de las cifras de este enzima en humor acuoso la tiene el grado de afectación de la cámara anterior por parte del tumor, no mostrando aquella correlación con el grado de calcificación, invasión coroidea o del nervio óptico, desprendimiento de retina, tipo de crecimiento (exo o endofítico), extensión,

inflamación, neovascularización, aspecto histológico o presencia de necrosis (8).

La presencia de niveles elevados de LDH en el humor acuoso de ojos no portadores de retinoblastoma ha sido relacionada con la liberación del enzima de tejidos que han sufrido un proceso de necrosis. Tal es el caso del paciente informado por DIAS (5) con embolismo arterial retiniano o los pacientes con enfermedad de Coats. Los casos de endoftalmitis con cifras elevadas de LDH-acuosa han intentado explicarse por la existencia de una alteración de la barrera hemátovítrea (10).

Los resultados de este trabajo ilustran las limitaciones que tiene el estudio de la LDH en humor acuoso en el diagnóstico del retinoblastoma. No encontramos justificación aparente para el hallazgo de niveles bajos de LDH en el caso 2, siendo que se trataba de un tumor de tamaño, ubicación e histología comparables a los que mostraba el tumor del caso 3, el cual por el contrario sí presentaba una muy significativa elevación de las cifras de este enzima en humor acuoso. Tampoco encontramos justificación aparente, descartado un error de técnica, para el hallazgo de cifras elevadas de este enzima en el acuoso de un caso de catarata congénita y aniridia, no asociadas a ninguna otra patología ocular. La gravedad que conlleva la existencia de un falso positivo o falso negativo injustificados en el diagnóstico de un proceso tumoral de la gravedad del retinoblastoma hace cuestionar la utilidad de la técnica diagnóstica que las ocasiona, en este caso el estudio de los niveles de actividad de la LDH-acuosa. Si revisamos los resultados, aparentemente optimistas, encontrados por otros autores en anteriores trabajos, podemos observar que por ejemplo en la serie de PIRO (8) de 23 casos de retinoblastoma

al menos 8 mostraban cifras absolutas de la actividad del enzima en humor acuoso iguales o inferiores a 400 ui/l y que en la serie de SWARTZ y HERBST (10) de 7 casos 5 presentaban también valores inferiores a esta cifra, aunque la relación LDH-acuosa/LDH-sérica era superior a 1,5 en todos los casos.

En nuestra opinión, aunque los resultados ofrecidos por el estudio de la LDH-acuosa tienen un innegable valor en el diagnóstico del retinoblastoma, este valor es sólo orientativo, careciendo la prueba del elevado valor semiológico que le atribuyen otros autores. (5) (7) (11).

BIBLIOGRAFIA

Mc DONALD M., ABRAMSON D., ELLSWORTH R. et al: Lactate dehydrogenase levels and isoenzyme patterns in the serum and aqueous humour of adult cataract patients. *Arch. Ophthalmol.* 95:2068, 1977.

WROBLEWSKI F.: The clinical significance of alterations in lactic dehydrogenase activity of body fluids. *Am. J. Med. Sci.* 234:301, 1957.

DIAS P., SHANMUGANTHAN S.S., RAJARATNAM M.: Lactate dehydrogenase activity of aqueous humour in retinoblastoma. *Brit. J. Ophthalmol.* 55:130, 1971.

DIAS P.: Prognostic significance of aqueous humour Lactic Dehydrogenase activity. *Brit. J. Ophthalmol.* 63:571, 1979.

DIAS P.: Correlation of aqueous humour acid dehydrogenase activity with intraocular pathology. *Brit. J. Ophthalmol.* 63:574, 1979.

KABAK J., ROMANO P.: Aqueous humour lactic dehydrogenase isoenzymes in retinoblastoma. *Brit. J. Ophthalmol.* 59:268, 1975.

Como ocurre con otras técnicas diagnósticas, la no demostración de un aumento de la actividad del enzima tanto en términos absolutos como relativos, en un ojo portador de un supuesto tumor carece de significación.

Por el contrario, el hallazgo de cifras elevadas de LDH en un ojo que plantea un problema diagnóstico tendrá un valor orientativo hacia la existencia de un retinoblastoma, aunque nunca permitirá confirmarlo concluyentemente en ausencia de datos procedentes de otras técnicas diagnósticas que lo corroboren.

KENKO A. (Citado por Swartz). Lactic acid dehydrogenase activity an isoenzyme in the retinoblastoma. *Acta. Soc. Ophthalmol. Jap.* 76:672, 1972.

PIRO P., ABRAMSON D., ELLSWORTH R., et al: Aqueous humour lactate dehydrogenase in retinoblastoma patients. *Arch. Ophthalmol.* 96:1823, 1978.

STONE R., KRUPIN T.: Elevated lactic acid dehydrogenase in aqueous humour in an eye without retinoblastoma. *Am. J. Ophthalmol.* 82:94, 1976.

SWARTZ M., HERBST R., GOLDBERG M.: Aqueous humour lactic acid dehydrogenase in retinoblastoma. *Am. J. Ophthalmol.* 78:612, 1974.

SWARTZ M.: Aqueous humour lactic acid dehydrogenase in retinoblastoma. En «Intraocular Tumors». Peyman G., Apple D., Sanders D. Appleton-Century-Crofts. Pub, 1975.

(*): Jefe de Sección. Hospital Clínico Universitario. Salamanca.

(**): Jefe de Sección. Ciudad Sanitaria de la Seguridad Social José Antonio. Zaragoza.

(***): Médico Residente. Ciudad Sanitaria de la Seguridad Social José Antonio. Zaragoza.

DIRECCION DEL AUTOR: Dr. Jorge Alió Sanz.
Plaza de Gabriel y Galán N° 10, 8° A.
Salamanca.