

# Isoenzimas de lactato deshidrogenasa en el suero y aspirado bronquial de recién nacidos con dificultad respiratoria de etiología diversa

M.R. Sánchez Navarro, C. Oliver Almendros, M. Peña Caballero\*, J.A. Hurtado\*, M. Samaniego Muñoz\*

**Resumen. Objetivo:** Comprobar la utilidad de la determinación sérica de isoenzimas de LDH, como marcadores de daño tisular pulmonar, en los recién nacidos con cuadros de dificultad respiratoria.

**Pacientes y métodos:** Se estudiaron 94 neonatos clasificados en dos grupos: Uno formado por 64 recién nacidos con dificultad respiratoria grave y un grupo control formado por 30 niños sanos con edad gestacional y peso similares al grupo anterior. La actividad de LDH y sus isoenzimas se determinó en el suero de todos los niños y en 23 muestras de aspirado bronquial obtenidas de enfermos ventilados mecánicamente. Las isoenzimas se separaron por electroforesis sobre gel de agarosa expresándose su actividad como porcentaje de la LDH total.

**Resultados:** Las isoenzimas LDH1 y LDH2 disminuyeron, mientras las LDH4 y LDH5 aumentaron significativamente ( $p < 0,001$ ) en el suero de los niños patológicos en relación al grupo control. En los niños ventilados, comparamos los valores de isoenzimas de LDH obtenidos en el aspirado bronquial con los valores plasmáticos correspondientes, encontrando niveles significativamente más bajos de LDH2 y LDH3 y más altos de LDH5 ( $p < 0,001$ ) en el aspirado bronquial, así como, una correlación positiva y estadísticamente significativa ( $r = 0,47$ ,  $p < 0,01$ ) entre los valores de LDH5 en ambas muestras.

**Conclusiones:** El estudio muestra diferencias significativas en los perfiles isoenzimáticos de LDH en los neonatos con dificultad respiratoria. El aumento en el suero de las isoenzimas LDH4 y sobre todo LDH5, podría ser un marcador eficaz de daño tisular en la enfermedad pulmonar del recién nacido.

*An Esp Pediatr* 1996;45:62-66.

**Palabras clave:** Dificultad Respiratoria; Láctico deshidrogenasa; Isoenzimas de Láctico deshidrogenasa; Aspirado bronquial.

## SERUM AND BRONCHIAL ASPIRATE LACTATE DEHYDROGENASE ISOENZYMES IN NEONATES WITH RESPIRATORY DISTRESS OF DIFFERENT ETIOLOGY

**Abstract. Objective:** To study the usefulness of lactate dehydrogenase isoenzymes serum determination as tissue injury markers in newborns with respiratory distress.

**Design and methods:** Ninety four neonates were studied and classified in two groups: 64 suffering various types of respiratory problems, and 30 healthy newborns of a similar birth weight and gestational age. LDH activity and its isoenzymes was determined in the serum of all the infants and in 23 samples of the bronchial aspirate of infants who required ventilation support. The isoenzymes were separated by electrophoresis on agarose gel and their activity was expressed as percentage of the total LDH.

**Results:** LDH1 and LDH2 isoenzymes were decreased, and LDH4 and LDH5 isoenzymes were significantly increased ( $p > 0,001$ ) in infants' serum with respiratory distress, compared with controls. We compared LDH isoenzymes values found in bronchial aspirate with their values found in serum of ventilate infants, and we found a significant levels of LDH2 and LDH3 were lower, and those of LDH5 were higher ( $p < 0,001$ ) in bronchial aspirate than in serum and a positive correlation ( $r = 0,47$ ,  $p < 0,01$ ) between LDH5 values in both samples.

**Conclusions:** The study shows significant differences in the LDH isoenzyme profiles of neonates with respiratory distress compared with controls. The increase in serum of LDH4 and particularly of LDH5 isoenzymes could be an effective marker of tissue damage in lung disease in the newborn.

**Key words:** Respiratory Distress; Lactate Dehydrogenase; Lactate Dehydrogenase Isoenzymes; Bronchial aspirate.

## Introducción

La láctico deshidrogenasa (LD; EC 1.1.1.27) o LDH, es una enzima del metabolismo intermedio presente en todas las células del organismo bajo cinco formas isoenzimáticas diferentes. Los distintos tejidos contienen diferentes cantidades y formas de esta enzima, así mientras corazón, riñón, cerebro y hemáties muestran un predominio de LDH1 y las isoenzimas intermedias, LDH2, LDH3 y LDH4 destacan en pulmón, bazo, glándulas endocrinas nódulos linfáticos y plaquetas, la LDH5 se encuentra fundamentalmente en hígado y músculo esquelético<sup>(1-3)</sup>. M.Cahn y cols.<sup>(4)</sup>, sugieren que la isoenzima LDH1 predomina en tejidos ricos en aporte de oxígeno que sufren metabolismo oxidativo, mientras la LDH5 es la principal forma hallada en el músculo esquelético, al tratarse de un tejido que experimenta glucólisis anaerobia con acumulación de lactato y piruvato.

Se ha propuesto que los perfiles isoenzimáticos varían de acuerdo con las necesidades metabólicas particulares de los diferentes tejidos y que esta variación puede producirse en respuesta a procesos patológicos tales como isquemia, inflamación, necrosis o cáncer<sup>(5-7)</sup>.

Las isoenzimas de LDH han sido ampliamente investigadas pero su utilidad clínica se halla un tanto limitada al infarto de miocardio debido, posiblemente, a que si bien es cierta la especificidad tisular para las diferentes isoenzimas, no lo es menos que existe una superposición considerable en esta especificidad.

Departamento de Bioquímica. Hospital Universitario "S.Cecilio". \*Unidad Neonatal. Hospital General "Virgen de las Nieves". Granada

Correspondencia: Manuel Samaniego Muñoz

Hospital General "Virgen de las Nieves". Unidad Neonatal. 18014 Granada

Recibido: Octubre 1995

Aceptado: Marzo 1996

Tabla I Características de los recién nacidos estudiados

	<i>n</i>	<i>Edad gestacional (semanas)</i>	<i>Peso al nacer (gramos)</i>
RN con distrés			
a término	26	40 ± 1,5	3.500 ± 544
pretérmino	38	33 ± 2,8	2.170 ± 420
RN normales			
a término	15	40 ± 0,8	3.040 ± 297
pretérmino	15	33 ± 1,5	2.200 ± 346

Clásicamente los estudios enzimáticos se han realizado utilizando suero como material diagnóstico, aunque actualmente se llevan a cabo en distintos fluidos orgánicos<sup>(8-13)</sup>.

En lo que se refiere a la enfermedad pulmonar escasean los trabajos sobre este tema, nos hemos interesado en el estudio de la LDH y de sus isoenzimas en el recién nacido con dificultad respiratoria, en un intento de detectar cambios en los perfiles isoenzimáticos, que pudieran ser útiles como marcadores de daño tisular, realizándose las determinaciones isoenzimáticas en el suero y también en el líquido procedente del lavado bronquial de los neonatos que por su gravedad precisaron ventilación mecánica.

### Pacientes y métodos

Se han estudiado 94 recién nacidos (RN) clasificados en dos grupos: Un grupo formado por 64 neonatos ingresados, en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, por presentar un cuadro grave de dificultad respiratoria en el período neonatal inmediato y un grupo de 30 RN, aparentemente sanos, con edad gestacional y peso al nacer similares al grupo patológico, que fue utilizado como control. Las características personales de los niños estudiados se reflejan en la tabla I.

Los enfermos fueron seleccionados en relación a parámetros clínicos, función respiratoria y afectación radiológica compatibles con una dificultad respiratoria grave. Se obtuvieron muestras de sangre venosa en las primeras horas de vida (9,5 ± 7), enviadas al laboratorio, centrifugadas y procesadas de forma inmediata, evitándose rigurosamente su congelación. La misma pauta se siguió con los RN sanos.

En algunos casos, al diagnóstico de las causas de dificultad respiratoria se llegó posteriormente a la toma de muestras, así, 6 casos de pulmón edematoso presentaron, inicialmente, una imagen radiológica granular bilateral que hizo pensar en una enfermedad de la membrana hialina (EMH); su carácter transitorio y la comprobación por radiografías seriadas posteriores de la hiperventilación de campos pulmonares, confirmaron que se trataba de una taquipnea transitoria o pulmón edematoso, las muestras de estos niños tomadas en las primeras horas de vida fueron procesadas normalmente, pero los casos, aunque incluidos en el grupo patológico global, pasaron a formar un grupo etiológico propio como se refleja en la tabla II. De igual for-

Tabla II Diagnóstico de las causas de dificultad respiratoria

<i>Diagnóstico</i>	<i>nº de pacientes</i>
Enfermedad de la membrana hialina (EMH)	28
Síndrome de aspiración meconial (SAM)	12
Neumonía neonatal	9
Pulmón edematoso	6
Hipertensión pulmonar neonatal	4
Neumotórax	3
Hemorragia pulmonar	2

ma, la confirmación de la existencia de un componente infeccioso perinatal o como complicación añadida formaron los 9 casos de neumonía neonatal. Los 64 niños con dificultad respiratoria grave se agruparon atendiendo al diagnóstico de la enfermedad causal y a la presentación de complicaciones posteriores: neumotórax, hemorragia, hipertensión pulmonar etc.

El 80% de los niños patológicos estudiados precisaron ventilación mecánica. Pudimos analizar 23 muestras de aspirado bronquial procedentes de estos niños. El aspirado bronquial se recogió por un método estandarizado consistente en la instilación con sonda fina a través del tubo endotraqueal de suero fisiológico al 0,9 %, calentado previamente en la palma de la mano, en partes alicuotas de 1 ml, que se aspiraron, tras un minuto de ventilación manual, en un recipiente estéril de doble entrada. El aspirado se centrifugó, para eliminar el moco, utilizándose el sobrenadante para las determinaciones analíticas desechándose aquellos aspirados que contenían restos hemáticos. En los niños ventilados que fueron tratados con surfactante exógeno, las muestras de sangre y aspirado bronquial se recogieron antes de la instilación traqueal del surfactante.

La actividad total de LDH, se midió a 37°C, en autoanalyzer Hitachi 704 con reactivos Boehringer Mannheim (Automated Analysis for BM/Hitachi, Systems 704 y 705). Las isoenzimas se separaron por electroforesis con el sistema Paragon, utilizando kits "Lactate Dehydrogenase Isoenzyme Electrophoresis" (Beckman Instruments, Inc., Fullerton CA, 92634-3100). Se utilizó gel de agarosa tamponado a pH 8,2. La electroforesis tuvo lugar a 100 voltios durante 20 minutos; una vez finalizada, se incubaron los geles con un substrato específico para la enzima durante 30 minutos a 45°C en cámara húmeda. La cantidad relativa de las bandas se cuantificó a 600 nanómetros, en un densitómetro Appraise (Beckman) y la actividad de cada isoenzima se calculó como porcentaje de la actividad enzimática total.

En los aspirados bronquiales se cuantificaron las proteínas totales utilizando el método Pyrogallol-red-molibdato (Quantimetrix), expresándose las actividades enzimáticas totales de LDH en UI/mg de proteína x 10<sup>-3</sup>.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el test paramétrico de Student para comparación de muestras independientes; para la comparación de resultados de actividad enzi-

Tabla III LDH y sus isoenzimas en recién nacidos con diversos cuadros de dificultad respiratoria. Valores medios  $\pm$  DE

	EMH n = 28	SAM n = 12	Neumonía n = 9
LDH Total (IU/L)	1.596 $\pm$ 790	1.719 $\pm$ 776	2.230 $\pm$ 903
LDH1 (%)	15,9 $\pm$ 4,7	15,3 $\pm$ 2,8	14,6 $\pm$ 3,2
LDH2 (%)	29,9 $\pm$ 4,1	29,4 $\pm$ 5,9	25,8 $\pm$ 3,6
LDH3 (%)	26,2 $\pm$ 2,5	26,1 $\pm$ 4,2	23,5 $\pm$ 3,6
LDH4 (%)	13,9 $\pm$ 3,9	14,5 $\pm$ 4,0	16,7 $\pm$ 2,5
LDH5 (%)	14,1 $\pm$ 5,1	14,7 $\pm$ 4,5	19,4 $\pm$ 6,5

Tabla IV Actividad sérica de LDH y de sus isoenzimas en los recién nacidos estudiados, Valores medios  $\pm$  DE

	RN sanos n = 30	RN patológicos n = 64
LDH Total (IU/L)	1.032 $\pm$ 281	1.848 $\pm$ 823
LDH1 (%)	19,1 $\pm$ 4,2	15,5 $\pm$ 3,0
LDH2 (%)	36,7 $\pm$ 4,0	28,4 $\pm$ 6,1
LDH3 (%)	26,1 $\pm$ 2,2	25,6 $\pm$ 4,9
LDH4 (%)	10,4 $\pm$ 3,0	14,7 $\pm$ 3,6
LDH5 (%)	8,8 $\pm$ 3,0	15,6 $\pm$ 8,5

Tabla V Actividad enzimática de LDH y de sus isoenzimas en el suero y en el aspirado bronquial de los niños ventilados. Valores medios  $\pm$  DE

	LDH Total		Isoenzimas de LDH (%)				
	IU/L	IU/mg $\times 10^{-3}$	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5
Aspirado		862 $\pm$ 420	20,3 $\pm$ 9,5	19,1 $\pm$ 6,9	19,5 $\pm$ 4,6	15,4 $\pm$ 5,4	25,7 $\pm$ 13,7
Suero	1.078 $\pm$ 603		16,7 $\pm$ 2,9	29,9 $\pm$ 6,2	26,5 $\pm$ 4,4	13,6 $\pm$ 3,1	12,7 $\pm$ 6,5

mática en suero y en aspirado bronquial se utilizó el mismo método para muestras apareadas. Se aplicó el método de regresión lineal "r" de Pearson para estudiar la correlación entre variables cuantitativas. En todos los casos el nivel de significación se estableció en  $p < 0,05$ . Los datos se procesaron con el paquete estadístico RSIGMA para PC.

## Resultados

Inicialmente, tanto los controles sanos como los recién nacidos patológicos se dividieron en dos grupos, según su edad gestacional fuera mayor o menor de 37 semanas, para ser estudiados separadamente. En la comparación de resultados no se encontró relación entre los valores séricos de isoenzimas de LDH y la edad gestacional, por lo que se consideró un único grupo control formado por 30 recién nacidos sanos.

Dentro del grupo patológico y teniendo en cuenta el diagnóstico de la dificultad respiratoria, se consideraron de forma independiente 3 grupos formados por: 28 casos de EMH, 12 casos de SAM y 9 casos de neumonía neonatal. Los valores medios y la desviación estándar (DE), de la actividad sérica de LDH, así como los correspondientes valores porcentuales de sus isoenzimas se reflejan en la tabla III. En la comparación de resultados no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre estos grupos, únicamente la LDH5 mostró valores plasmáticos más elevados en los neonatos con neumonía pero sólo en relación con los enfermos de EMH ( $p < 0,05$ ).

La tabla IV muestra los valores medios y la desviación estándar (DE), de la actividad sérica de LDH y de sus isoenzimas, encontrados en el grupo patológico considerado globalmente. En la comparación de resultados encontramos que, las isoenzi-

mas LDH1 y LDH2 se mostraron significativamente disminuidas ( $p < 0,001$ ) en el suero de los recién nacidos con dificultad respiratoria, mientras que las LDH4 y LDH5 aumentaron significativamente ( $p < 0,001$ ) en relación con el grupo control. La diferencia no fue significativa para los valores de LDH3.

En 23 de los niños que precisaron ventilación mecánica, se pudieron estudiar las isoenzimas de LDH tanto en el suero como en el líquido procedente del lavado bronquial. La tabla V muestra los valores medios y la DE encontrados en el aspirado bronquial y sus valores plasmáticos correspondientes.

En el suero, la isoenzima predominante fue la LDH2, (30%), mientras en el aspirado bronquial los porcentajes más elevados correspondieron a la LDH5 (25,7%). Los valores de LDH2 y LDH3 fueron significativamente más bajos ( $p < 0,001$ ) mientras los valores de LDH5 significativamente más elevados ( $p < 0,001$ ) en el aspirado bronquial en comparación con el suero. No se apreciaron diferencias significativas en las isoenzimas LDH1 y LDH4. El coeficiente de correlación mostró una correlación positiva y estadísticamente significativa entre la LDH5 del aspirado y su correspondiente valor plasmático LDH5 ( $r = 0,47$ ,  $p < 0,01$ ).

## Discusión

En este estudio hemos medido la actividad enzimática de la láctica deshidrogenasa y la distribución de sus isoenzimas en el suero y en el aspirado bronquial de niños recién nacidos con dificultad respiratoria grave de etiología diversa. Encontramos un aumento de la actividad total de LDH en el suero de estos niños, pero al tratarse de una enzima con una amplia distribución en el organismo<sup>(2-4)</sup>, consideramos este dato poco específico y de difícil interpretación.

Se han encontrado aumentos de LDH en proteinosis alveolar y en algunos casos de pneumonitis intersticial descamativa, ambas asociadas con diversos grados de hipoxia<sup>(14)</sup>, pero, en general, existen pocos trabajos que relacionen el aumento de LDH sérica con la enfermedad pulmonar. Cuando se desarrollaron las técnicas de separación de isoenzimas de LDH, muchos investigadores intentaron relacionar las alteraciones en el patrón isoenzimático con el daño a ciertos tejidos como el miocardio, hígado o músculo estriado<sup>(15-18)</sup>. Estudios realizados en homogeneizados de tejido, mostraron que las isoenzimas LDH3, LDH4 y LDH5 son las predominantes en tejido pulmonar<sup>(15)</sup>.

Rotemberg y cols.<sup>(19)</sup>, encontraron un aumento en la actividad total de LDH en el suero de enfermos con neumonía bacteriana, incremento que se basaba en el aumento de la isoenzima LDH3 cuando la actividad total era moderadamente elevada, pero cuando esta actividad superaba las 500 UI/L, en el perfil isoenzimático predominaban las isoenzimas LDH4 y LDH5. Balinsky et al.<sup>(20)</sup>, determinaron isoenzimas de LDH en enfermos de cáncer pulmonar encontrando incrementos de LDH4 y LDH5. Baldini G. y cols. en 1992, estudiaron las isoenzimas de LDH en niños de edades comprendidas entre los 18 meses y 10 años con patología respiratoria diversa encontrando aumentos muy significativos en los valores séricos de LDH4 y LDH5<sup>(21)</sup>.

Nosotros estudiamos la distribución de isoenzimas de la LDH en el suero de niños con dificultad respiratoria grave en el período neonatal inmediato y encontramos que el perfil isoenzimático era diferente, así mientras en el recién nacido sano, al igual que ocurre en el adulto, la isoenzima predominante es la LDH2, esta isoenzima disminuye al tiempo que la LDH4 y sobre todo la LDH5 aumentan significativamente en el suero de los recién nacidos con enfermedad pulmonar.

Smith y cols.<sup>(22)</sup> determinaron isoenzimas de LDH en el líquido procedente del lavado broncoalveolar en enfermos con neumonía por *Pneumocystis carinii*, encontrando valores muy altos de LDH a expensas principalmente de LDH3 y dedujo que, los valores altos encontrados en el suero eran de origen pulmonar reflejando un flujo continuo de la LDH del pulmón a la sangre a través de la membrana alveolo-pulmonar comprometida en la neumonía. Otros autores han realizado estudios enzimáticos en el aspirado bronquial de adultos con enfermedad pulmonar<sup>(8,12)</sup>, así como en derrames pleurales en enfermos con patología pulmonar cancerosa y/o inflamatoria<sup>(11,23-25)</sup>.

Hemos estudiado las isoenzimas de LDH en el aspirado bronquial de 23 niños con insuficiencia respiratoria grave que precisaron ventilación mecánica, encontrando un patrón isoenzimático característico, en el que la isoenzima LDH2 aparecía notablemente disminuida mientras la LDH3 y sobre todo la LDH5 significativamente aumentadas en relación con sus valores plasmáticos correspondientes. Comprobamos una correlación positiva entre la LDH5 del aspirado bronquial y el incremento de esta misma enzima en el suero, lo que parece confirmar su origen en el tejido pulmonar dañado.

La LDH es una enzima constitutiva de tejido, los niveles plasmáticos considerados como "normales" obedecen a la re-

novación celular y un aumento de estos niveles en el suero son siempre indicativos de daño celular o necrosis<sup>(26)</sup>. En nuestro estudio las isoenzimas de LDH se han mostrado como marcadores eficaces de daño tisular pulmonar al aumentar de forma significativa en los niños con dificultad respiratoria grave.

Ha de hacerse constar que la mayoría de los pacientes estudiados recibieron ventilación mecánica y no se ha podido establecer si el factor gravedad desempeña un papel fundamental en el aumento plasmático de las isoenzimas LDH4 y LDH5. Esto, junto al hecho de que el grupo, desde el punto de vista etiológico, pueda resultar muy heterogéneo y/o el número de casos demasiado escaso, obliga a cierta cautela en la interpretación de resultados. El estudio de un grupo más homogéneo, con diferentes grados de gravedad y sobre todo la posible variación de los perfiles isoenzimáticos en relación con la evolución de la enfermedad deberán ser evaluados en un futuro en orden a establecer la trascendencia de nuestros resultados.

## Agradecimientos

A J. Martínez Vela y C. Ruiz Rivas, A.T.S. de la UCIN, y a C. Ayala Jiménez, M. Naranjo Santos-Olmo, ayudantes, técnicos de Laboratorio por su colaboración.

## Bibliografía

- 1 Wroblewski F, Gregory KF. Lactic dehydrogenase isoenzymes and their distribution in normal tissue and plasma and in disease states. *Ann NY Acad Sci* 1961; **94**:912-932.
- 2 Agostoni A, Vergani C, Villa L. Intracellular distribution of the different forms of lactic dehydrogenase. *Nature* 1966; **209**: 1024-1025.
- 3 Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. En: Tietz NW, ed. *Textbook of Clinical Chemistry*. Philadelphia: WB Saunders Co., 1986: 678-698.
- 4 Cahn RD, Kaplan NO, Levine L, Zwilling, E. Nature and development of lactic dehydrogenase. *Science* 1962; **136**:962-969.
- 5 Lott JA, Stang JM. Serum enzymes and isoenzymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis. *Clin Chem* 1980; **26**:1241-1250.
- 6 Giannoulaki E, Clagett G, Wolf R, Cafferty P, Harmon J, Rich N. Lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in sera of patients with malignant diseases. *Clin Chem* 1989; **35**:396-399.
- 7 Castaldo A, Russo G, Castaldo P, Minella R, Castaldo G. Presence of "flipped" lactate-dehydrogenase isoenzyme pattern in serum from children with acute leukemia. *Clin Chem* 1991; **37**:1805-1808.
- 8 Ruiz-Moral R, Pérez Jiménez F, Cosano A, Hens M, Muñoz L. Alkaline phosphatase, gamma-glutamyl transferase, lactate dehydrogenase and creatine kinase in bronchial aspirate from neoplastic and normal pulmonary tissue. *Enzyme* 1985; **33**: 105-108.
- 9 Smith N, Kallia E, Matveikov G, Levin V. Elevated lactate dehydrogenase values in patients with pneumocystis carinii pneumonia. *Chest* 1988; **93**:987-992.
- 10 Declerek D, Vandewalle K, Spince-Maille J, Bleton V, Van Renterghem D. Lactic dehydrogenase isoenzymes in pleural effusions. *J Clin Chem Biochem* 1988; **26**:294-295.
- 11 Paavonem T, Liippo K, Aronen H, Kiistala U. Lactate dehydrogenase, creatine kinase and their isoenzymes in pleural effusions. *Clin Chem* 1991; **37**:1909-1012 .

- 12 Hoffman RM, Rogers RM. Serum and lavage lactate dehydrogenase isoenzymes in pulmonary alveolar proteinosis. *Ann Rev Respir Dis* 1991; **143**: 42-46.
- 13 Lutsar Y, Haldre S, Topman M, Talvik, T. Enzymatic changes in the cerebrospinal -fluid in patients with infections of the Central-Nervous-System. *Acta Paediatr* 1994; **83**:1146-1150.
- 14 Martin RJ, Rogers RM, Myers NM. Pulmonary alveolar proteinosis: shunt fraction and lactic acid dehydrogenase concentration as aids to diagnosis. *Am Rev Respir Dis* 1978; **117**:1059-1062.
- 15 Galen RS; Gambino SR. Isoenzyme of CPK and LDH in myocardial infarction and certain other diseases. *Pathol Biol Ann* 1975; **5**:283-315.
- 16 Papadopoulos NM. Clinical applications of lactate dehydrogenase isoenzymes. *Ann Clin Lab Sci* 1977; **7**:506-510.
- 17 Cohen L, Diordjevich J, Jacobsen S. The contribution of isoenzymes of serum lactic dehydrogenase to the diagnosis of specific organ injury with special reference to myocardial injury. *Med Clin North Am* 1966; **50**:193-209.
- 18 Wolf PL. Interpretation of lactate dehydrogenase isoenzymes. *Clin Lab Med* 1986; **6**:541-545.
- 19 Rotenberg Z, Weinbeger Y, Davidson E, Fuchs J, Sperling O, Agmon J. Significance of isolated increases in total lactate dehydrogenase and its isoenzymes in serum of patients with bacterial pneumonia. *Clin Chem* 1988; **34**:1503-1505.
- 20 Balinsky D, Greegard V, Cayanis E, Head JF. Enzyme activities and isoenzyme patterns in human lung tumors. *Cancer* 1984; **44**:1058-1062.
- 21 Baldini G, Bertelloni A, Cappuccio A, Pifferi M. La latticodeidrogenasi de suoi isoenzimi nella patologia respiratoria del bambino. *Minerva Paediatr* 1992; **44**:165-169.
- 22 Smith RL, Ripps CS, Lewis ML. Elevated lactate dehydrogenase values in patients with *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Chest* 1988; **93**:987-992.
- 23 Saint-Remy P, Buret J, Radermecker M. Significance of lactate dehydrogenase in pleural effusions. *Rev Pneumol* 1986; **42**:74-81.
- 24 Ritcherich R, Zuppinger K, Rossi E. Diagnostic significance of heterogeneous lactic dehydrogenases in malignant effusions. *Nature* 1961; **191**:507-508.
- 25 Goldstein RA, Rohatgi PK, Bergosky EH. Clinical role of bronchoalveolar lavage in adults with pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1990; **142**:481-486.
- 26 Hohnadel DC. Enzimas. En: Kaplan-Pesce. Química Clínica. Teoría, Análisis, y Correlación. Ed. Médica Panamericana S.A. Junín 831. Buenos Aires. 1986:1125-1139.