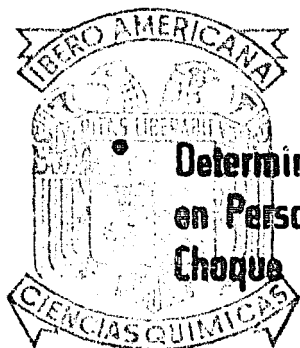


UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



**Determinación de Lactato y Piruvato
en Personas Normales y en Casos de
Choque**

T E S I S

Que para obtener el título de :

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :

MA. DE LOS ANGELES CHAVEZ GONZALEZ

MEXICO, D. F.

1966



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**DETERMINACION DE LACTATO Y PIRUVATO EN
PERSONAS NORMALES Y EN CASOS DE CHOQUE**

MARIA DE LOS ANGELES CHAVEZ GONZALEZ

MEXICO, D. F.

1980

A mis Padres

Sr. Lic. Rodolfo Chávez C.

Sra. Mary Ethel G. de Chávez,

con todo mi cariño.

A mis hermanos

Enrique Luis, Mary Ethel y

Rodolfo E. J.

**Al Director de esta Tesis,
Sr. Q. F. B. Guillermo Burgos
con mi agradecimiento.**

**A mis maestras y amigas
Paula Coppola de R.
Araceli Sánchez de C.
Lilly Olivia García**

**A mi amiga de siempre
María Eugenia Galván M.**

**A mi abuela
Sra. Angela C. Vda. de Chávez**

**A la memoria entrañable de mi abuelo
Sr. Enrique L. Chávez**

En agradecimiento a la
Unidad de Ginecología y Obstetricia
del Centro Médico Nacional.

A las personas que me prestaron
su colaboración, y en especial
al Dr. José Luna del Villar

I.- INTRODUCCION

II.- ASPECTOS GENERALES

III.- MATERIAL Y METODOS

IV.- RESULTADOS

V.- COMENTARIOS

VI.- RESUMEN

VII.- BIBLIOGRAFIA

CAPITULO I
INTRODUCCION

INTRODUCCION.

Quando el abastecimiento de oxígeno a los tejidos es inadecuado y se presenta una disminución progresiva del contenido en el aire alveolar, la presión de este gas en otras partes del sistema de transporte también decae progresivamente. En caso de continuar esa situación podemos hablar de un estado de hipoxia.

En estudios previos (1) (2) se ha sugerido que la producción de ácido láctico por los diversos tejidos se relaciona directamente con el grado de oxigenación celular. Sin embargo, estos informes están sujetos a objeciones técnicas como las expuestas por Huckabee (3). Otros investigadores (4) observan diferente correlación entre el lactato y el déficit de oxígeno, o bien, no reconocen relación alguna. La sugerencia original de Hill, Long y Lupton (1) de que la producción de lactato se asocia con la deficiencia de oxígeno en el cuerpo, se estudió en condiciones muy especiales. Nuestra intención es confirmar esa relación en casos de choque, ya que al presentarse éste, independientemente de su etiología, un defecto es una disminución de la irrigación sanguínea que automáticamente origina una deficiencia del elemento nutritivo más importante, o sea el oxígeno.

El conocimiento actual sobre el metabolismo aeróbico y anaeróbico es muy preciso, no hay duda sobre el desarrollo de la glicólisis y la respiración. Sin embargo, los factores específicos que causan el daño tisular permanente, después de un breve período de hipoxia aún no son comprendidos. Se ignora, por ejemplo, si el daño se debe sólo a la hipoxia y a la consecuente reducción de la producción de la energía, o si el grupo de metabolitos anaeróbicos son tóxicos por sí mismos.

En los períodos de hipoxia la glicólisis se presenta con

una acumulación de electrones principalmente como NADH_2 (nicotinamida-adenin-dinucleótido reducido). Si el metabolismo glicolítico continúa, el NAD (nicotinamida-adenin-dinucleótido oxidado) puede regenerarse. Pero si se llega a una fase en que disminuya o no se regenere el NAD por la vía del transporte de electrones al oxígeno, el ácido pirúvico pasa a ser el principal aceptor de electrones. La reducción del piruvato a lactato permitirá que la glicolisis continúe, pero el ácido láctico se acumula y en estas condiciones la única ruta metabólica de este producto es a partir del piruvato, (5). Esta acumulación contribuye a la acidosis metabólica asociada con el choque.

Para una adecuada valoración de los niveles de lactato y piruvato se requiere el establecimiento de cifras normales en un grupo bien seleccionado. En el caso particular de estos dos metabolitos existe siempre la posibilidad de obtener valores erróneos por los numerosos factores que pueden modificar los resultados al cuantearlos. En nuestro estudio se da especial atención a las condiciones en que se toma la muestra, atendiendo a las recomendaciones de Friedmann y Haugen (6). Ya que en ocasiones es difícil la obtención de sangre -- arterial se analiza la diferencia arterio-venosa de ácido láctico y pirúvico y se trata de demostrar que los resultados de sangre venosa son útiles. Holmgren (7) no encontró diferencia entre la concentración arterial y venosa tanto de ácido láctico como de pirúvico en -- personas sujetas a reposo y después de ejercicio, obviamente en este caso la cifra total de ambos metabolitos aumenta (8) y el "exceso de lactato" es paralelo al incremento del ácido láctico (9) (10)

CAPITULO II
ASPECTOS GENERALES

METABOLISMO DEL ACIDO LACTICO Y ACIDO PIRUVICO.

Se ha mencionado el hecho de que el ácido láctico se acumula en el músculo cuando el suplemento de oxígeno es insuficiente para los procesos oxidativos que se requieren en la actividad muscular. El lactato muscular constantemente se difunde hacia el torrente sanguíneo y en condiciones normales es captado por el hígado y transformado en glucógeno. En la actualidad por experimentos con ácido láctico marcado se demuestra que este producto llega a originar un aumento en glucógeno hepático lo cual significa que el lactato se incorpora a la comunidad metabólica en el hígado y va a aumentar el material aprovechable que en los pasos de oxidación proporciona energía para la conversión a glucógeno. Una porción del ácido láctico sanguíneo es removido por otros tejidos especialmente cerebro y corazón ya que éstos dos órganos consumen lactato tan fácilmente como emplean la glucosa (11).

Las reacciones catabólicas por las cuales la glucosa es degradada a anhídrido carbónico y agua se dividen en fases anaeróbica y aeróbica. La fase anaeróbica del metabolismo de la glucosa puede ocurrir en presencia de oxígeno o sin él, obviamente su carácter anaeróbico se deriva de que el oxígeno no se requiere en ninguno de sus pasos. El término glucolisis es comunmente aplicado a la producción de ácido láctico a partir de glucosa o glucógeno.

Glicolisis.- Formación de Acido Láctico.

Ciclo anaerobio

1.- La primera reacción en el metabolismo de la glucosa -6- fosfato es su conversión a fructuosa-6-fosfato, catalizada por la isomerasa.

2.- La mayor parte de la fructosa-6-fosfato por medio de la fosofructohexaquinasa, en presencia de ATP y de iones Mg, pasa a fructosa-1,6-difosfato.

Otra porción de la fructosa-6-fosfato por la fosfoglucomutasa puede pasar a glucosa-1- fosfato y luego formarglucógeno.

3.- La molécula de fructosa-1,6-difosfato se rompe por acción de una aldolasa, y libera dos fosfotriosas: gliceraldehido-3 fosfato y dihidroxiacetona-3-fosfato. Esta última puede pasar a gliceraldehido-3-fosfato por efecto de una fosfotriosaisomerasa.

4.- Gliceraldehido-3-fosfato se oxida a ácido-1,3-difosfoglicérico (reacción exergónica). La reacción está catalizada por la gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa, siendo el glutatión el grupo prostético. El grupo SH de la deshidrogenasa participa en la oxidación del gliceraldehido en forma anaeróbica, pues hay remoción de hidrógeno, que es transferido por el NAD. Después por fosforilación se obtiene el ácido-1,3-difosfoglicérico. El radical fosfato en posición 1 es de alta energía.

5.- El radical fosfato en posición 1 es transferido por el ADP para producir dos moléculas de alta energía de ATP y una de ácido-3-fosfoglicérico. La reacción es catalizada por una fosfoquinasa.

6.- Por la intervención de una triosa mutasa el ácido 3-fosfoglicérico pasa a ácido-2-fosfoglicérico, esto por una enolasa, con pérdida de una molécula de agua para a ácido fosfoenolpirúvico.

7.- La fosfoquinasa remueve el radical fosfato del ácido fosfoenolpirúvico, el cual es transferido por el ADP formando dos moléculas mas de alta energía de ATP y ácido enolpirúvico.

8.- El ácido enolpirúvico pasa a ácido pirúvico.

9.- Si las condiciones anaerobias prevalecen, el ácido pirúvico se reduce a láctico, utilizando el hidrógeno del NAD reducido obtenido de la oxidación del gliceraldehido al ácido glicérico.



Se regenera el NAD, que nuevamente puede participar en la reacción de oxidación descrita.

Cuando el músculo no se esfuerza intensivamente, el NAD reducido pasa al sistema celular riboflavin-citocromos para ser oxidado, y en este caso el producto final es ácido pirúvico. Pero cuando el trabajo muscular es mayor, se produce mas NADH, y en consecuencia se requiere un mecanismo efectivo para su oxidación .(12)

Ciclo aerobio.

En esta vía glicolítica, denominada ciclo del ácido cítrico o de Krebs, el ácido pirúvico se oxida a anhídrido carbónico y agua.

Reacciones:

1.- El ácido pirúvico (y el ácido láctico después de su conversión a ácido pirúvico) reacciona con la coenzima A para formar la acetilcoenzima A o acetato activo. La reacción es irreversible, catalizada por una descarboxilasa que requiere vitamina B₁ y ácido lípico.

2.- La acetilcoenzima A se condensa con el ácido oxalacético para formar el ácido cítrico iniciándose el ciclo.

3.- En presencia de la enzima aconitasa y de iones ferricos, el ácido cítrico se isomeriza a ácido isocítrico.

4.- El isocitrato se deshidrata, quedando ácido succínico.

5.- Por medio de la deshidrogenasa isocítrica se tiene - el ácido oxalosuccínico, los hidrógenos son transportados por NAD.

6.- En este paso se pierde un carbón como anhídrido carbónico por la descarboxilasa oxalosuccínica y en presencia de iones Mn (reacción irreversible), quedando ácido alfa ceto glutárico.

7.- Un segundo átomo de carbón se pierde como anhídrido carbónico por la acción enzimática de la alfa ceto glutárico deshidrogenasa en presencia de vitamina B₁, ácido lipoico y coenzima A. - También se pierden hidrógenos que son transportados por el NAD. Queda finalmente ácido succínico (reacciones irreversibles).

8.- Dos hidrógenos del ácido succínico son transportados por el FAD quedando éste reducido, se forma ácido fumárico. La reacción está catalizada por la deshidrogenasa succínica.

9.- La entrada de una molécula de agua al ácido fumárico por la acción de una fumarasa, da lugar a la formación de ácido málico (reacción débilmente exergónica, reversible).

10.- La deshidrogenasa málica actúa removiendo los hidrógenos de carbonos adyacentes, quedando formado el ácido oxalacético, el cual puede iniciar el ciclo uniéndose al acetato activo. (12)

Aspectos Fisiológicos.

Como se sabe la mayor parte de la glucosa removida por la corriente sanguínea en el proceso de glicogenólisis, forma glicógeno muscular. Otra parte más pequeña de glucosa por glicogenólisis - también, forma glicógeno hepático. Mas el hígado utiliza los amino-

ácidos liberados de la digestión intestinal y transportados por la vena porta para las síntesis de las proteínas (albúmina y fibrinógeno), estas proteínas en parte son degradadas y la fracción sin nitrógeno se utiliza para la elaboración de glucógeno hepático, por el proceso llamado gluconeogénesis. Estimulado por las hormonas de la corteza suprarrenal, la gluconeogénesis puede realizarse con las mismas proteínas del hígado.

Cuando un impulso nervioso estimula las fibras musculares, los filamentos de actina y miosina se acortan, pasan de un estado de relajamiento a un estado de contracción. El proceso requiere liberación de energía a partir de ATP que pasa a ADP, en presencia de iones calcio. Otras moléculas de ATP se requieren para iniciar la fosforolisis y después la glicolisis.

Cuando hay suficiente cantidad de oxígeno durante el esfuerzo muscular, la glucosa se degrada a ácido pirúvico y ácido láctico en menor proporción. La restitución de la energía potencial del músculo se efectúa con la oxidación del ácido pirúvico a través del ciclo de Krebs y la formación de glucógeno muscular de nuevo.

El ácido láctico liberado, bien se utiliza en el músculo para formar glucógeno, o es transportado por la sangre al hígado convirtiéndose en glucógeno hepático, éste de nuevo se degrada a glucosa, la cual será transportada al músculo para ser convertida en glucógeno muscular. Es un ciclo que encierra la energía de oxidación de la glucosa, el almacenaje de glucógeno, la restauración original de ATP y restauración del estado normal de las fibras musculares.

Cuando el oxígeno se encuentra en poca cantidad, la reoxidación del NAD, a través de la cadena respiratoria, es débil entonces se reoxida por la acción en la que el ácido pirúvico se reduce a ácido láctico.

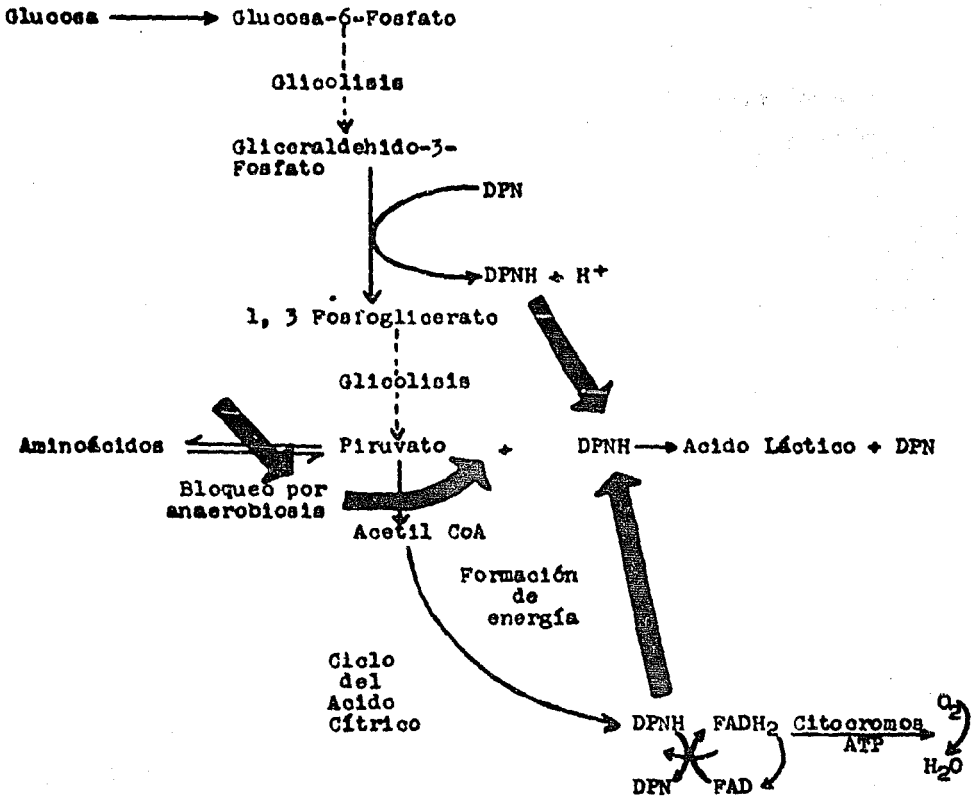
Debido a que en condiciones anaeróbicas los productos fi-

nales de la glicolisis son ácido láctico y ácido pirúvico en menor cantidad. Se limitará la energía utilizada para las células y por lo tanto, mayor cantidad de glucosa deberá ser degradada. El ácido láctico se acumula produciendo fatiga muscular, porque se detiene el proceso oxidativo necesario para la actividad muscular. Se incrementa la permeabilidad de los capilares musculares, causando edema e infiltración.

En personas normales, el ácido láctico es transportado por la sangre al hígado, y otra parte queda en el músculo, convirtiéndose en glicógeno en ambos órganos. Otra porción de ácido láctico está removida por otros tejidos, como cerebro y corazón que lo utilizan para formar glucosa, desapareciendo la acidosis. Hay que tener en cuenta que algo de lactato, durante el restablecimiento a su estado normal el músculo, se oxida a ácido pirúvico y luego a anhídrido carbónico y agua. El ácido láctico sanguíneo también puede provenir de la glicolisis de la glucosa en los glóbulos rojos que se encuentra como ion lactato y es recogido por el hígado.

El ácido pirúvico se encuentra en la sangre, en concentraciones de 1 mg. por 100 ml. aproximadamente; esto indica la rapidez con la que es utilizado u oxidado por las células; en condiciones de hipoxia se convierte en ácido láctico, y es éste el que se acumula en sangre y tejidos. De aquí la importancia de su determinación en estados de choque. Puesto que en este síndrome los tejidos presentan hipoxia, y en consecuencia, un aumento de ácido láctico es señal amenazadora, que indica el desenvolvimiento de la fase irreversible. (13)

METABOLISMO ANAEROBICO DE LA GLUCOSA
EN ESTADOS DE CHOQUE.



CHOQUE

El síndrome de choque es un estado generalizado del organismo, que se presenta como un trastorno funcional, con baja de volumen sanguíneo, presión arterial y venosa baja, pulso rápido y filiforme, temperatura subnormal, sed, vómitos, piel cianótica o grisácea humedecida por el sudor, ansiedad que pasa a la depresión cerebral y depresión de los reflejos nerviosos.

El estado de choque se ha dividido en cuatro fases:

1) Fase Inicial.

Generalmente es de duración breve. En esta fase interviene el sistema nervioso para-simpático por estimulación refleja vagal, se presenta una rápida caída de la presión sanguínea, bradicardia y broncoespasmo.

La baja de volumen sanguíneo es por pérdida directa cuando se trata de hemorragias. En el caso de trauma, quemaduras, infección y deshidratación, la pérdida de volumen sanguíneo es debido al daño que sufren los capilares.

2) Fase Compensadora Simpática.

También se ha llamado a este período fase hiperactiva por Shorr. El sistema nervioso simpático es el responsable de la aparición de esta fase. El paciente presenta una vasoconstricción enérgica (menos notable en el corazón y en el sistema nervioso central), y excitación debido a que el cerebro se encuentra en estado de hipoxia.

La médula de las cápsulas suprarrenales, por medio de la estimulación del sistema nervioso simpático, presenta una sobreproducción de adrenalina. El papel de la adrenalina en este período es muy extenso, pues actúa estimulando el lóbulo anterior de la hipófisis, para producir la hormona corticotropina (ACTH), la cual a su vez estimula la corteza suprarrenal produciendo cortisona.

La cortisona interviene en el metabolismo de los carbohidratos y proteínas, por consiguiente, es la responsable de la degradación de glicógeno hepático a glucosa y en menor grado interviene en la glicolisis muscular.

La adrenalina en circulación capilar, provoca la contracción de las arteriolas, metarteriolas y esfínteres precapilares, -- favoreciendo el paso de la sangre por las anastomosis arterio-venosas. Por ésto, los centros principales obtienen suficiente irrigación.

Debido a estos hechos, la fase de compensación presenta este cuadro:

- 1.- Aumento de glicolisis hepática.
- 2.- Aumento de glucosa sanguínea.
- 3.- Aumento de glicolisis muscular, en consecuencia de -- estos tres datos: aumento del nivel de lactato sanguíneo.
- 4.- Mayor degradación de proteínas en el hígado, lo que indica aumento de nitrógeno no proteico en la sangre.
- 5.- Aumento de neutrófilos y eosinófilos.
- 6.- Aumento de ácidos grasos en el plasma.

Los síntomas son: normotensión, taquicardia con pulso -- acelerado, broncodilatación.

3) Fase Progresiva o Período Transicional de Shorr.

El endotelio capilar está constituido por una capa de -- células unidas por gluco-proteínas en estado de polimerización. Su permeabilidad disminuye en presencia de adrenalina y cortisona. Al no haber estimulación del sistema nervioso simpático para la producción de dichas hormonas, la pared capilar se vuelve permeable. Con ésto y la dilatación del capilar, la presión sanguínea bajará.

Debido a que la corriente venosa disminuye, el transporte de glucosa también disminuye. Los tejidos presentan hipoxia, en consecuencia, la glicolisis será anaerobia y el producto final será ácido láctico, que aumenta su nivel en la sangre, ya que la tardanza para ser transferido del músculo y tejidos al hígado, provoca acumulación en la sangre de ión lactato.

La anoxia produce depresión sobre el corazón; Guyton y Crowell (14) han demostrado que el corazón sufre un severo daño a medida que el choque progresa y que este deterioro es uno de los principales motivos de la muerte. Otros autores (15) (16) (17) también están de acuerdo con esta opinión, y explican que habiendo daño en el corazón la afluencia sanguínea a los órganos disminuye siendo esta falla la causante del deterioro renal.

4) Fase irreversible o estado hiporreactivo de Shorr.

La presión sanguínea baja más aún, presentándose hemoconcentración, bradicardia y respiración auspirosa. Los niveles de lactato aumentan exageradamente, pues hay hipoxia aguda. Cesa la actividad de los riñones.

Aumenta la permeabilidad de los capilares, por esto, la distribución acuosa será irregular, el equilibrio osmótico se rompe, hay destrucción celular (liberación de iones potasio), hiponatremia (se presenta edema en el espacio intersticial). La sangre se vuelve más viscosa, por la hemoconcentración. Los capilares se encuentran dilatados, se abren los esfínteres precapilares apareciendo un estancamiento sanguíneo por la hipotensión.

El paciente pasade un estado de excitabilidad neuromuscular a un estado de inconsciencia, y en forma general, el fin es la muerte.

Exceso de Lactato.

Huckabee (3) ha valorado el metabolismo anaeróbico en animales de experimentación, determinando la relación de lactato y piruvato sanguíneos y calculando el "exceso de lactato". Este exceso se usa como índice de hipoxia tisular y Huckabee lo define como:

$$XL = (Lt - Lo) - (Pt - Po) \frac{Lo}{Po}$$

(exceso de lactato)

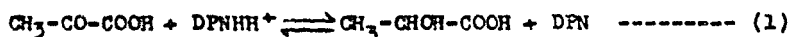
Lt; Lactato al tiempo t.

Lo; Lactato en condiciones basales.

Pt; Piruvato al tiempo t.

Po; Piruvato en condiciones basales.

La expresión se deriva de la sección en que interviene la deshidrogenasa láctica.



Por la Ley de Acción de Masas:

$$[Piruvato][DPNH^+] = K[Lactato][DPN] \quad \text{----- (2)}$$

Esta expresión puede acomodarse para mostrar los dos factores fisiológicos que afectan la concentración de lactato al tiempo to.

$$[Lactato] = [Piruvato] \times \frac{[DPNH^+]_0}{[DPN]_0} \quad \text{----- (3)}$$

La diferencia en lactato entre to y otro tiempo tn a condición de que no exista hipoxia será:

$$[Lactato]_n - [Lactato]_0 = [Piruvato]_n - [Piruvato]_0 \times K \frac{DPNH^+}{DPN} \quad \text{----- (4)}$$

Sustituyendo en la ecuación (3) el valor obtenido al despejar K:

$$[Lactato]_n - [Lactato]_0 = [Piruvato]_n - [Piruvato]_0 \times \frac{Lactato_0}{Piruvato_0} \quad \text{--- (5)}$$

CAPITULO III
MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS.

Nuestro material de trabajo estuvo formado por treinta -- personas aparentemente normales, sin trastornos cardiacos o respiratorios, a las que se determinó la concentración de ácido láctico y pirúvico en sangre venosa. A un grupo de diez personas simultáneamente se les tomó sangre venosa y de arteria radial previa aplicación local de anestesia, procediendo a cuantificar los mismos elementos -- que en el primer grupo.

Para el estudio de casos patológicos fueron seleccionados quince enfermos y se practicaron de una a cinco determinaciones de -- ácido láctico y pirúvico en sangre venosa. De este grupo, cinco con diagnóstico de choque séptico; tres, choque hemorrágico; seis, infecciones severas que por los datos clínicos estaban en condición de -- desarrollar choque. Se estudió también un caso de traumatismo craneo -- encefálico en estado de coma.

Las precauciones en la toma de las muestras se describen en cada método.

Acido Láctico.

Se siguió la técnica descrita por Barker y Summersen (18) cuyo fundamento químico es el siguiente:

El filtrado libre de proteínas se trata con sulfato cúprico e hidróxido de calcio para remover dextrosa y otras sustancias - interferentes. El ácido sulfúrico convierte el ácido láctico en acetaldehído, éste con para-hidroxi-difenilo origina un producto de condensación color púrpura (Reacción de Eegruwe), cuya intensidad aumenta por la adición de iones cúpricos.

Toma de la muestra.

La sangre se obtiene por punción venosa en personas con ayuno mínimo de tres horas y en reposo absoluto no menor de una hora. La ligadura en el brazo del paciente se retira tan pronto como la -- aguja haya penetrado en la vena y se advierte al paciente que no abra y cierre la mano para distender la vena. La muestra se recibe en un tubo con fluoruro de sodio en proporción de 10 mg por ml de sangre.- El fluoruro actúa como anticoagulante e inhibidor de la glicolisis.

Reactivos.

1.- Acido tricloroacético al 10 %.

Disolver 100 g del ácido en agua destilada y aforar a --- 1000 ml. Preservar en frasco de vidrio pyrex. Preparar semanalmente y guardar en refrigerador.

2.- Sulfato Cúprico al 20 %.

Disolver 20 g de sulfato cúprico cristalino ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada y diluir a 100 ml.

3.- Hidróxido de calcio en polvo.

4.- Sulfato cúprico al 4 %.

Diluir 20 ml de la solución de sulfato cúprico al 20 % - en 100 ml de agua destilada y mezclar.

5.- Acido sulfúrico concentrado.

Deberán tenerse las precauciones adecuadas para prevenir la contaminación por materia orgánica. Evitar su exposición al aire.

6.- Reactivo para-hidroxí-difenilo $C_6H_5-C_6H_4OH$.

Pesar 1.5 g de para-hidroxí-difenilo y llevar a un matraz de 250 ml, añadir 5 ml de hidróxido de sodio aproximadamente 2.5 N y 10 ml de agua destilada; calentar hasta que la solución sea completa, moviendo constantemente, diluir a 100 ml con agua destilada. Preservar en frasco de vidrio oscuro. Estabilidad: aproximadamente seis meses a temperatura ambiente. Se debe eliminar cuando la densidad óptica del testigo es mayor de 0.13, leído contra agua.

Nota.- Todo el material de vidrio se lava con ácido sulfúrico y se enjuaga con agua destilada.

Técnica.

1.- En un tubo de centrifuga poner 9 ml de ácido tricloroacético al 10 %. Agregar 1 ml de sangre total gota a gota agitando - constantemente, tapar y agitar vigorosamente por treinta segundos.

2.- En un tubo de centrifuga poner 9 ml de ácido tricloroacético al 10 %, 1 ml de agua destilada, tapar y mezclar (testigo).

3.- Dejar reposar cinco minutos y centrifugar a 3000 rpm durante diez minutos. No debe filtrarse por dos razones: en primer lugar deberá considerarse que el papel filtro es un factor de contaminación; y además al filtrar se corre el riesgo a evaporarse dando lugar a resultados erróneos.

4.- Del sobrenadante se toman 2 ml y se pasan a otro tubo de centrifuga.

5.- A cada tubo añadir 1 ml de sulfato cúprico al 20 % y mezclar.

6.- Diluir a 10 ml con agua destilada; tapar y mezclar.

7.- Añadir aproximadamente 1 g de hidróxido de calcio, -- tapar y mezclar vigorosamente por treinta segundos, si la mezcla no

tiene un color azul claro, añadir más hidróxido.

8.- Dejar en reposo treinta minutos y repetir la agitación a intervalos de 10 minutos.

9.- Centrifugar a 3000 rpm durante 10 minutos.

10. Transferir 1 ml de cada centrifugado a tubos pyrex de 18 x 150 mm. Este paso debe efectuarse introduciendo la punta de la pipeta bajo la superficie del líquido, tapando con el dedo índice - la parte superior de la pipeta para prevenir la entrada de partículas que estén en la superficie del líquido. Antes de dejar escurrir debe limpiarse con una gaza la pipeta exteriormente, se eliminan en esta forma las partículas adheridas.

11.- A cada tubo añadir 0.05 ml de sulfato cúprico al 4 % y mezclar.

12.- Añadir 8 ml de ácido sulfúrico concentrado, dejarlo caer con cuidado de una bureta, los tubos deberán agitarse lateralmente hasta que los componentes estén completamente mezclados.

13.- Poner los tubos en baño de agua hirviente por cinco minutos y enfriarlos a 20° C.

14.- Añadir 0.1 ml de para-hidroxidifenilo, dejándolo --- caer directamente sobre el ácido, agitar para dispersar el precipitado.

15.- Colocar los tubos en baño de agua a 30° C durante 30 minutos (tiempo mayor no perjudica la reacción). Redispersar el precipitado agitando cada 10 minutos. La solución deberá tener color -- azul violáceo; si está de color rojo púrpura indicará que la temperatura ha sido demasiado alta y el análisis deberá repetirse -- desde el paso 10.

16.- Poner los tubos en baño de agua hirviente exactamente 90 segundos. La solución debe estar perfectamente transparente.

17.- Enfriar en agua corriente a la temperatura del laboratorio.

18.- Medir la transmitancia del problema contra el testigo llevado a 100 % de transmisión a una longitud de onda de 565 mμ y obtener la concentración de ácido láctico en la curva de calibración.

Calibración.

Se emplean los reactivos ya descritos y las siguientes -- soluciones:

a) Solución concentrada de ácido láctico. Contiene 1 mg - por ml. En un matraz volumétrico de 100 ml poner 106.6 mg de lactato de litio recristalizado ($\text{LiC}_3\text{H}_5\text{O}_3$). Añadir aproximadamente 80 ml de agua destilada y agitar hasta disolución; añadir dos gotas de ácido sulfúrico concentrado y diluir a 100 ml. Preservar en refrigerador. Estabilidad indefinida.

b) Solución diluida (1 ml contiene 0.03 mg de ácido láctico).

En un matraz volumétrico de 100 ml poner 3 ml de la solución patrón y diluir al volumen con agua destilada. Preparar cada vez que se use.

c) Soluciones para la calibración.

En una serie de matraces volumétricos de 10 ml poner respectivamente 0, 2, 4, 6, 8 y 10 ml de la solución b y aforar a 10 ml con agua destilada. Estas soluciones representan concentraciones de ácido láctico equivalentes a 0, 15, 30, 45, 60 y 75 mg en 100 ml de muestra.

Razonamiento.

La solución diluida de estándar contiene 0.03 mg por ml. De esta solución se toman 2 ml y en un matraz volumétrico de 10 ml se afora, o sea que ahora se tiene en los 10 ml 0.06 mg

El siguiente paso consiste en tomar 5 ml y proseguir desde el paso 6, en el que se completa a 10 ml y luego se toma 1 ml que contendrá 0.003 mg.

Tomando en cuenta las diluciones que se efectúan en la muestra de sangre problema se tiene: 1 ml de sangre se agrega a 9 ml de ácido tricloroacético al 10 % para desproteínizar (1: 10); de aquí se toman 2 ml y se aforan a 10 ml, o sea que se tienen 0.2 ml de la muestra en 10 ml.

Después se toma 1 ml, sobre el cual se procede a desarrollar color. Este ml contiene 0.02 ml de muestra y haciendo una relación con el estándar se tiene:

Si en 0.02 ml de muestra existen 0.003 mg; en 100 ml cuántos mg habrá. El resultado es 15 mg por 100 ml, el cual expresa la concentración que tiene la segunda solución utilizada para la calibración. En el caso de la tercera dilución, la que contiene 30 mg por 100 ml se razona de la siguiente manera: si en 0.02 ml de muestra existen 0.006, en 100 ml habrá 30 mg.

Las soluciones para la calibración deben prepararse en el momento de usarse y proseguir como sigue:

Técnica.

1.- Transferir 5 ml de cada dilución a un tubo de centrifuga de 15 ml.

2.- Proceder exactamente según la técnica descrita desde el paso 5 al 17 inclusive.

3.- Llevar a 100 % de transmitancia con el testigo y leer a 565 mμ en espectrofotómetro. Graficar los resultados en papel semilogarítmico.

Acido Pirúvico.

Se emplea el método de Friedmann y Haugen (19).

Fundamento químico;

El ácido pirúvico y otros cetoácidos; ácido glioxálico y aldehidos tienen la propiedad de formar dinitrofenilhidrazonas con la dinitrofenilhidrazina. Una extracción inicial con xilol permite la separación cuantitativa de la hidrazona de ácido pirúvico junto con las hidrazonas de ácido glioxálico y aldehidos. La re-extracción con carbonato sódico separa prácticamente toda la hidrazona del ácido pirúvico con una pequeña cantidad de las hidrazonas de otros ácidos. Por tratamiento de la fase de carbonato sódico con sosa se desarrolla un color café rojizo que se mide espectrofotométricamente.

Toma de la muestra.

Se toman las mismas precauciones que para el ácido láctico y una vez extraída la sangre se pasa inmediatamente a un tubo, de ahí se miden 2 ml con una pipeta volumétrica y se dejan caer gota a gota sobre 10 ml de ácido tricloroacético al 10 % previamente medido en un tubo de centrifuga, se agita con fuerza y se refrigera durante 10 minutos antes de proceder. La sangre así colectada puede conservarse en refrigerador por dos días sin sufrir pérdida demostrable de ácido pirúvico. En casos de cetosis la muestra debe permanecer toda la noche en el refrigerador para eliminar el pequeño efecto del ácido acetacético.

Reactivos.

1.- Acido tricloroacético al 10 %.

Disolver 10 g de ácido tricloroacético cristalino en agua destilada a 100 ml. Preparar semanalmente y guardar en refrigerador. Aumento y variabilidad de testigos es el resultado de soluciones viejas o de soluciones que se han dejado a la temperatura ambiente.

2.- 2, 4 dinitrofenilhidrazina.

Triturar 100 mg de 2, 4 dinitrofenilhidrazina en un mortero con pequeñas porciones sucesivas de ácido clorhídrico (a) 2 N hasta 100 ml. Filtrar a través de un pequeño papel y guardar en refrigerador.

(a) Acido clorhídrico 2 N.

Poner 180 ml de ácido clorhídrico concentrado en 1000 ml de agua destilada usando fenolftaleína como indicador titular con una solución valorada de sosa.

3.- Xilol.

4.- Carbonato sódico al 10 %.

Disolver 10 g de carbonato sódico anhidro en 100 ml de --- agua.

5.- Sosa 3 N.

Técnica.

1.- Centrifugar el tubo que contiene la sangre en el ácido tricloroacético a 3000 rpm durante 10 minutos.

2.- Transferir 3 ml del sobrenadante claro a un tubo de 10 x 150 mm.

3.- En un tubo de 10 x 150 mm poner 2.5 ml de ácido tricloroacético y 0.5 ml de agua destilada. Esto servirá de blanco.

4.- Poner ambos tubos en baño de agua a 25° C durante 10 minutos.

5.- Adicionar 1 ml de 2, 4 dinitrofenilhidrazina y mezclar.

6.- Volver a colocar ambos tubos en el baño de agua a 25° C durante 5 minutos exactamente.

7.- Añadir 3 ml de xilol y mezclar durante 2 minutos.

8.- Dejar en reposo para que se separe la capa acuosa de la capa de xilol. Se pueden efectuar movimientos rotatorios para separar los globulitos que se encuentran adheridos a las paredes del tubo.

9.- Con una pipeta capilar extraer cuidadosamente la capa acuosa y eliminarla.

10.- Adicionar 6 ml de carbonato sódico al 10 % a la fase de xilol y mezclar de nuevo durante 2 minutos como en el paso 7.

11.- Dejar en reposo hasta que las capas se hayan separado

12.- Con la pipeta capilar extraer la fase xilol y descartarla.

13.- Una pequeña cantidad de xilol queda en la parte superior de la fase acuosa, esta fase se extrae con un pipeta cuya parte superior está tapada con el dedo con el objeto de no permitir la entrada de xilol. Se extraen 5 ml que se pasan a una cubeta.

14.- Añadir 2.5 ml de sosa 3 N y mezclar inmediatamente.

15.- Dejar en reposo 10 minutos a la temperatura ambiente.

16.- Medir la transmitancia contra el blanco llevado a 100 % de transmisión a una longitud de onda de 520 mμ y obtener la concentración de ácido pirúvico de la tabla de calibración.

Calibración.

Se emplean los reactivos ya descritos y las siguientes soluciones:

a) Solución concentrada de ácido pirúvico (1 ml contiene 1 mg de ácido pirúvico).

En un matraz volumétrico de 100 ml poner 100 mg de ácido pirúvico. Diluir a 100 ml con ácido sulfúrico 0.1 N. Guardar en refrigerador. Estabilidad: seis meses.

b) Solución diluida (1 ml contiene 0.05 mg de ácido pirúvico).

En un matraz volumétrico de 100 ml poner 5 ml de la solución concentrada y aforar con agua destilada. Debe prepararse en el momento de usarse

c) Soluciones para la calibración.

En una serie de 10 tubos poner respectivamente 0, 0.5, 1,

2, 4, 5, 6, 8 y 10 ml de la solución diluida; añadir 10, 9.5, 9, 8, - 6, 5, 4, 2 y 0 ml de agua destilada, respectivamente. Estas soluciones representan concentraciones de ácido pirúvico equivalentes a 0, - 0.3, 0.6, 1.2, 2.4, 3.0, 3.6, 4.8 y 6.0 mg por 100 ml. Deben prepararse en el momento de usarse.

Razonamiento.

Si el estándar diluido contiene 0.05 mg en 1 ml. Al tomar de este estándar 0.5 ml y aforar a 10 ml con agua destilada para la segunda solución de calibración, existirán en esos 10 ml 0.0125 mg de ácido pirúvico. A un matraz volumétrico se pasan 5 ml de esta solución y se afora. La concentración por ml será de 0.0025 mg del ácido. La siguiente dilución es llevar 3 ml para seguir la técnica, por consiguiente se trabajará con 0.0015 mg.

Por otra parte, a 10 ml de ácido tricloroacético al 10 % - se agregan 2 ml de la muestra de sangre para desproteinizar. Cada ml tendrá 1/6 ml de muestra, de aquí se toman 3 ml que equivalen a 1/2 - ml de muestra, o sea que se trabaja sobre 0.5 ml de muestra.

Relacionando: Si en 0.5 ml de muestra se encontraron 0.0015 mg, en 100 ml existirán 0.3 mg de ácido pirúvico (ver segunda solución para la calibración)

Si en 0.5 ml de muestra se encontraron 0.0030 mg, en 100 - ml los mg serán de 0.6 (ver tercera dilución o). Los cálculos para -- las siguientes diluciones pueden efectuarse de la misma manera, o bien, aplicando la Fórmula General de la Fotocolorimetría:

$$X = \frac{S}{D} \times c_x \times \frac{V'}{V} \times \frac{100}{M}$$

En donde:

X: La concentración en mg de ácido pirúvico por 100 ml.

S: Es el logaritmo de la lectura de transmitancia del estándar.

D: Es el logaritmo de la lectura de transmitancia del problema.

C: La concentración en mg de ácido pirúvico en el standard al hacer la lectura.

Por ejemplo en el último tubo de las soluciones para la calibración (c), se tiene que si en 25 ml existen 0.25 mg en 3 ml -- habrán 0.026 mg que corresponden a C.

V': Es el volumen final del problema (7.5 ml).

V: Volumen final del standard (7.5 ml).

M: Cantidad final de muestra.

Habiendo en los 6 ml de la solución alcalina de carbonato sódico al 10 % 0.5 ml de la muestra, de aquí se toman 5 ml que -- tendrán 0.4166 mg de muestra final que corresponden a M.

Técnica.

- 1.- Transferir 5 ml de cada solución al correspondiente matraz volumétrico de 25 ml.
- 2.- Diluir al volumen con ácido tricloroacético al 10 %. Enfriar
- 3.- Pasar 3 ml de cada matraz a un tubo correspondiente de 18 x 150 mm.
- 4.- Proceder exactamente según la técnica descrita, desde el - paso 4 al 15 inclusive.
- 5.- Llevar a 100 % de transmitancia con la solución diluida de 0 que no deberá presentar coloración rosa, y leer la transmitancia de la solución de 0.3, 0.6, 1.2, 2.4, 3.0, 3.6, 4.8, y 6.0 mg por 100 - ml. La transmitancia de la solución de 6.0 mg debe ser aproximadamente 32 %.
- 6.- Graficar los valores en un papel semilogarítmico.

Anotación.

Los datos obtenidos siguiendo los métodos, se expresan en mg por 100 ml. Para pasar los mg por 100 ml se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{mEq/l} = \frac{\text{mg} \times 100 \text{ ml} \times 10}{\text{Equivalente del ácido en estudio}}$$

CAPITULO IV
RESULTADOS

RESULTADOS.

En el cuadro 1 se representan los datos correspondientes al grupo normal y en el cuadro 2 se exponen las cifras de lactato y piruvato obtenidas en sangre arterial y venosa tomadas simultáneamente.

Los cálculos estadísticos se hicieron de acuerdo con las siguientes fórmulas (20), teniendo en cuenta que la Estadística es una ciencia que comprende una parte experimental y otra teórica. Los fundamentos teóricos tienen su base más importante en el cálculo de probabilidades. La parte experimental agrupa los fenómenos con las circunstancias peculiares en que se producen.

$$m = \frac{\sum x}{n}$$

m: Promedio.

x: Suma de los casos.

n: Número de casos

Desviación standard es la diferencia entre un valor dado de una serie de valores observados y el valor medio.

$$D.st = \sqrt{\frac{\sum (m-x)^2}{n-1}}$$

x.: Valor de cada caso.

El error tipo dá idea de la precisión del método utilizado

$$E.T. = \sqrt{\frac{\sum (m-x)^2}{n(n-1)}}$$

Es aparente que las concentraciones arteriales difieren - muy poco de los niveles en sangre venosa y se observa una diferencia máxima de 0.28 mEq/l para el ácido láctico, y de 0.023 mEq/l para el ácido pirúvico. En los dos sistemas tal diferencia no es significativa.

En el cuadro 3 se exponen las concentraciones halladas - en el grupo patológico y es de hacer notar que en todos los casos de choque estudiados las cifras son superiores a las del grupo control y los casos más severos: 3 y 6, el exceso de lactato es mayor, y éste no bajó en las determinaciones subsecuentes (caso 1), o el dato inicial fué muy alto y los enfermos fallecieron.

En la gráfica 1 las líneas representan las tomas de muestras (cada 24 horas), en las que se nota claramente la evolución del estado de choque, o bien, la recuperación del paciente. Aquellos casos en que no hubo una segunda toma porque fallecieron, sólo se encuentran representados por la única toma. En esta gráfica 1 se pone de manifiesto las variaciones de ácido láctico y pirúvico en casos de choque y se nota el paralelismo en las cifras de los dos metabolitos estudiados. Sin embargo, como se explicó previamente, el valor diagnóstico de estas determinaciones es mayor tomando en cuenta el exceso de lactato más que la elevación independiente de los dos ácidos. Esto es más notable en la gráfica 2 correspondiente al caso 8, cuya evolución favorable permitió el estudio seriado con cuatro determinaciones a intervalos de 24 horas.

La gráfica 3 nos permite ver la agrupación de las cifras de lactato y piruvato alrededor de las concentraciones medias y se comparan los grupos. La elevación en las cantidades en los casos de choque se nota claramente, y no existe en las infecciones severas y el caso de coma.

Cuadro 1

VALORES OBTENIDOS EN SANGRE VENOSA EN TREINTA PERSONAS NORMALES		
Casos	ACIDO LACTICO mg/l	ACIDO PIRUVICO mg/l
1	2.100	0.170
2	1.670	0.207
3	1.680	0.164
4	1.460	0.136
5	1.420	0.180
6	1.250	0.113
7	1.230	0.113
8	1.130	0.125
9	1.070	0.103
10	1.030	0.125
11	1.010	0.090
12	1.000	0.125
13	0.999	0.098
14	0.964	0.103
15	0.964	0.103
16	0.964	0.082
17	0.944	0.113
18	0.922	0.102
19	0.922	0.090
20	0.911	0.101
21	0.888	0.113
22	0.877	0.098
23	0.844	0.147
24	0.833	0.076
25	0.822	0.091
26	0.777	0.097
27	0.755	0.087
28	0.664	0.106
29	0.661	0.072
30	0.660	0.090
M	1.047	0.115
D. st.	0.331	0.318
E. T.	0.0605	0.00501

M: Media

D.st. Desviación standard

E.T. Error Tipo

CUADRO 2

NIVELES DE LACTATO Y PIRUVATO EN SANGRE
ARTERIAL Y VENOSA EN PERSONAS NORMALES

CASOS	Sangre Arterial		Sangre Venosa		Diferencia Arterio-Venosa	
	ACIDO LACTICO mEq/l	ACIDO PIRUVICO mEq/l	ACIDO LACTICO mEq/l	ACIDO PIRUVICO mEq/l	ACIDO LACTICO mEq/l	ACIDO PIRUVICO mEq/l
1	1.635	0.198	1.670	0.207	0.035	0.009
2	1.580	0.187	1.660	0.164	0.080	0.023
3	1.145	0.176	1.420	0.180	0.275	0.004
4	0.812	0.113	0.964	0.103	0.152	0.010
5	0.733	0.100	0.664	0.106	0.069	0.006
6	0.722	0.082	0.964	0.103	0.442	0.021
7	0.712	0.092	0.866	0.098	0.154	0.006
8	0.712	0.086	0.822	0.091	0.110	0.005
9	0.689	0.125	0.844	0.147	0.155	0.022
10	0.528	0.078	0.777	0.097	0.249	0.019
M	0.927	0.137	1.065	0.1296	0.138	0.0074
D st	0.391	0.055	0.375	0.0417	0.016	0.0133
E T	0.1235	0.0175	0.1185	0.01315	0.005	0.00435

- 29 -

M: Media

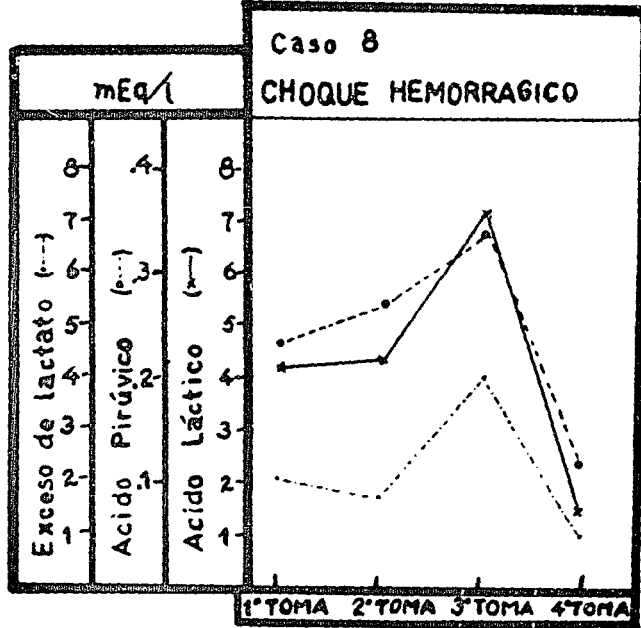
D.st.: Desviación
standard

E.T.: Error Tipo

Cuadro 3

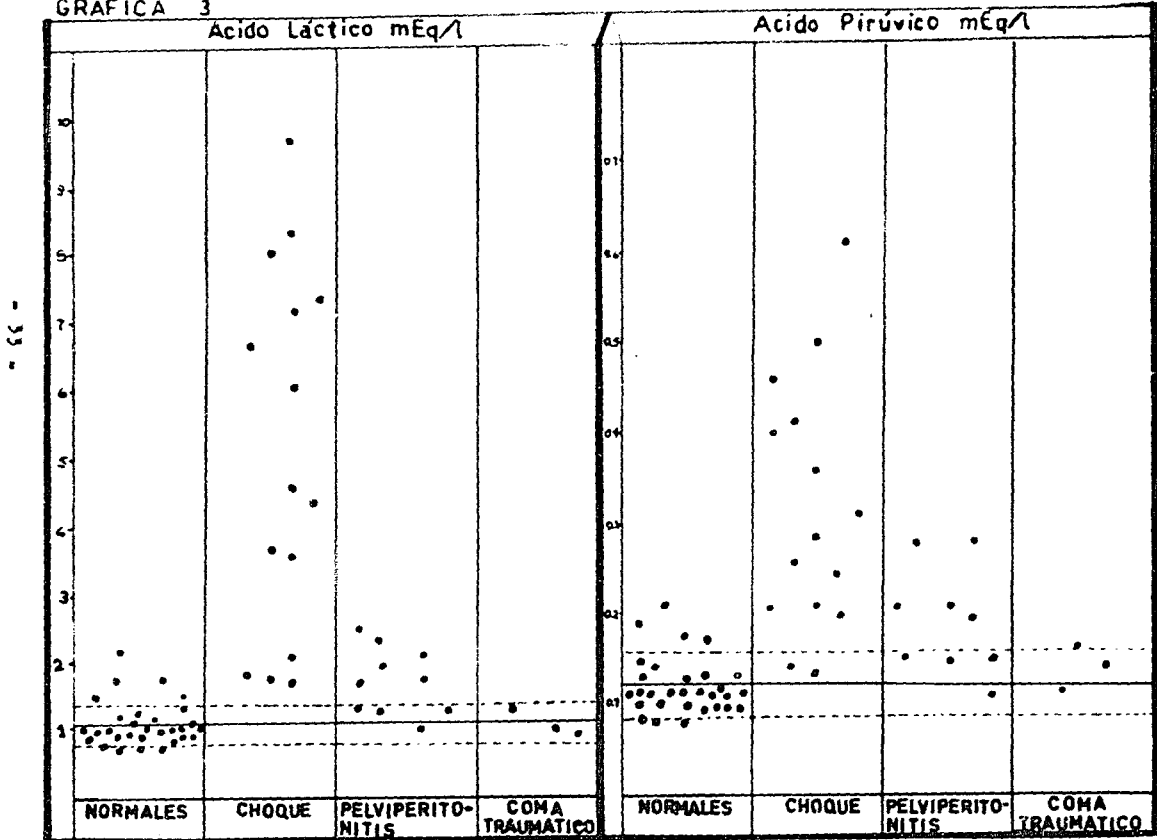
CONCENTRACIONES DE LACTATO Y PIRUVATO EN CASOS PATOLOGICOS					
CASOS		Acido láctico mEq/l	Acido pirúvico mEq/l	Exceso de lactato	Diagnóstico
1	"	8.00	0.344	4.870	CHOQUE SEPTICO
2	"	7.11	0.386	1.767	
	"	1.66	0.193	0.000	
3	"	6.00	0.308	4.778	
4	"	3.60	0.409	0.038	
	"	2.00	0.204	0.144	
5	"	3.50	0.250	1.225	
	"	1.70	0.138	0.442	
6	"	8.20	0.474	5.050	CHOQUE HEMORRAGICO
	"	9.60	0.608	5.520	
7	"	6.66	0.454	3.580	
	"	1.66	0.200	0.306	
8	"	4.30	0.238	2.134	
	"	4.50	0.275	1.997	
	"	7.40	0.352	4.197	
	"	1.66	0.130	0.116	
9	"	2.38	0.261	0.005	PELVIPERITONITIS.
	"	2.27	0.261	0.000	
10	"	2.20	0.205	0.332	
11	"	1.86	0.212	0.000	
12	"	1.70	0.181	0.051	
	"	1.20	0.141	0.000	
13	"	1.22	0.113	0.155	
	"	1.27	0.113	0.004	
14	"	1.00	0.102	0.000	
15	"	1.30	0.151	0.000	CONMOCION CEREBRAL POR TRAUMA CRANEO ENCEFALICO.
	"	1.05	0.134	0.000	
	"	0.183	0.122	0.000	

Gráfica 2



DISTRIBUCION DE LAS CIFRAS DE LACTATO Y PIRUVATO

GRAFICA 3



- 33 -

CAPITULO V
COMENTARIOS

COMENTARIOS.

Los métodos para la colección, preservación y análisis de los ácido láctico y pirúvico en sangre han sufrido numerosas modificaciones en el pasado. Es difícil descartar la posibilidad de que -- las técnicas empleadas afecten en forma apreciable algunos de los -- resultados publicados, por lo que deben discutirse en detalle.

Las cifras medias de piruvato en sangre periférica de personas en reposo, publicadas por varios autores difieren considerablemente con las obtenidas por nosotros. Platt y Lu (21) encontraron -- 0.045 mEq/l a 0.085 mEq/l, o sea que la cifra superior para ellos corresponde al límite inferior encontrado por nosotros, (ver cuadro 1). Friedmann y Haugen (22) publicaron una cifra media de 0.088 mEq/l.-- Bueding y Wortis (23) 0.116 mEq/l y Goldsmith (24) 0.114 mEq/l. Es -- de hacer notar la tendencia hacia las concentraciones bajas, que en opinión de Wortis (25) son ocasionados por una rápida descomposición del piruvato durante la toma de la muestra, y estos cambios son significativos en pocos segundos. Otros autores han confirmado el mismo hecho (26).

Los valores correspondientes al lactato sanguíneo tomados de diferentes publicaciones son de 1.11 mEq/l (27), 1.45 mEq/l (28), 1.54 mEq/l (29) 1.13 mEq/l (22). Estos resultados son sensiblemente iguales a los tabulados en los cuadros 1 y 2. Sin embargo, las cifras descritas antes de establecer un método de gran precisión y altamente específico como el de Barker y Summerson (18) revela valores medios más bajos, 0.887 mEq/l por Decker (30), 1.03 mEq/l por Goldsmith (24) y de 0.667 mEq/l por Bay y su grupo (31).

En nuestro trabajo usando sangre arterial o venosa, se redujo al mínimo el tiempo transcurrido entre la extracción de sangre y la precipitación de las proteínas para la cuantificación del piruvato; es claro que cualquier retardo en la desproteinización causa una baja

considerable del pirúvico. Los anticoagulantes como el fluoruro de sodio aceleran la desaparición del ácido. El empleo del fluoruro de sodio como anticoagulante para la determinación de lactato es satisfactoria, y no se observan variaciones de la concentración durante varias horas. Se considera que las técnicas expuestas son satisfactorias en el laboratorio clínico por su facilidad de operación y gran reproducibilidad. Aún cuando no se puede desconocer que los métodos enzimáticos (32) se realizan en tiempos relativamente menores con el inconveniente siempre presente de la inestabilidad de los reactivos; ya que las enzimas empleadas como la deshidrogenasa láctica, aún bajo condiciones de refrigeración, sufre variaciones de su actividad no siempre detectable.

Del estudio del grupo patológico no pueden darse conclusiones definitivas acerca del déficit de oxígeno por la determinación del ácido láctico solamente, ya que según los datos de Huckabee (3) es posible provocar una marcada elevación de lactato por infusión de piruvato o glucosa, así como por ligeros cambios en el pH sanguíneo, esto en ausencia de una disminución de oxígeno, pero el mismo autor aclara la utilidad de determinar simultáneamente ácido láctico y ácido pirúvico y bajo esa base determinar el "exceso de lactato" con la fórmula explicada en el capítulo III. Aún cuando el "exceso de lactato" no es patognomónico de la deficiencia de oxígeno y puede observarse en otras condiciones. El uso clínico mayor será como un medio sencillo de evaluar la anoxia, al mismo tiempo de contribuir al conocimiento de la evolución del choque y determinar en un momento dado la irreversibilidad del mismo.

Recientemente Broder y Weil (33) estudiaron un grupo de enfermos con choque de diferente naturaleza y demostraron estadísticamente que cuando el exceso de lactato calculado no excedía a 1 mEq/l el porcentaje de sobrevivientes es más del 80 % y a medida que el exceso sobrepasa a 2 mEq/l el porcentaje de sobrevivientes disminuye a

un 60 %, y de aquellos pacientes que tienen de 2 a 4 mEq/l una cuarta parte sobrevive.

Cuando el exceso llega a elevarse a 4 mEq/l o más, sólo un 11 % pudo salvarse y el pronóstico siempre es grave ya que la anoxia circulatoria probablemente en estas condiciones ha caído en el estado irreversible.

Los casos estudiados por nosotros están de acuerdo con los datos de Broder y su grupo. Todos aquellos en que el exceso de lactato aumentó a más de 4 mEq/l y no manifestó disminución en las tomas posteriores, cuando fué posible hacer éstas fallecieron. Por el contrario cuando la impresión clínica era desfavorable, pero los niveles de lactato y piruvato, así como el exceso no aumentaron, los pacientes se recuperaron. La evolución fué invariablemente reflejada en los niveles de los dos ácidos y en el exceso de lactato.

Pretendemos en nuestro estudio obtener datos de laboratorio que den un índice de la severidad del choque y el grado de hipoxia, lo cual parece resolverse en parte por determinaciones seriadas de lactato y piruvato, considerando siempre el cálculo del exceso de lactato como una guía clínica objetiva. Algunos autores (34) han intentado mejorar el suplemento de oxígeno en la sangre por el uso de cámaras hiperbáricas. Los experimentos han dado buenos resultados en el choque hemorrágico, usando el perro como medio de experimentación.

CAPITULO VI
RESUMEN

RESUMEN.

1° Se citan las cifras encontradas de lactato y piruvato - en treinta personas normales en condiciones basales.

2° Se estudió la diferencia arterio-venosa de ácido láctico y pirúvico en diez personas normales.

3° Las precauciones en la toma de las muestras se consideran en especial.

4° Los resultados obtenidos se analizan estadísticamente - y se discuten en relación a las cifras publicadas previamente.

5° Se estudió un grupo patológico formado por pacientes con infecciones severas y casos de choque. Sólo se encontró una elevación de lactato y piruvato en casos de choque y se considera la utilidad - de estas pruebas como índice del grado de hipoxia.

6° Se calculó el "exceso de lactato" en los casos estudiados y se discuten los resultados.

7° En los casos de choque se observa una estrecha correlación entre los niveles de ácido láctico y pirúvico, así como del exceso de lactato con la evolución del paciente.

CAPITULO VII
BIBLIOGRAFIA

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Hill. A.V. Loy, C.N.H. and Lupton, H. Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilization of oxygen. V. The recovery process after exercise in man. Proc. Roy. Soc. 97, 96, 1924.
- 2.- Jervell. Investigation of the concentration of lactic acid in blood and urine under physiologic and pathologic conditions. Acta Med. Scand. Supp. 24, 1928.
- 3.- Huckabee W.E. Relationships of pyruvate and lactate during anaerobic metabolism. I- Effects of infusion of pyruvate or glucose and of hyperventilation. J. Clin. Invest. 1958, 37, 244.
- 4.- Margaria R. Edwards. H. T. and Dill D.P. The possible mechanisms of contracting and paying the oxygen debt and the role of lactic acid in muscular contractions. Amer. J. Physiol. 1933. 106, 689.
- 5.- Fruton S.J. and Simmonds S. General Biochemistry. 30. Ed. John Wiley Inc. 1956.
- 6.- Riedmann, T.E. ; and Haugen, G.E. Pyruvic acid. I- Collection of blood for the determination of pyruvic and lactic acid. J. Biol. Chem. 144, 67, 1942.
- 7.- Holmgren A. Arterio-Venous lactic acid differences in man at rest and during muscular work. Scand. J. Clin. Invest. 11, 150, 1959.
- 8.- Asmussen, E. Pyruvate and lactate content of the blood during and after muscular work. Acta Physiol. Scand. 20, 125, 1950.
- 9.- Carlson, L. A. and Pernow. B.; Studies on the peripheral circulation and metabolism in man. I- Oxygen utilization and lactate-pyruvate formation in the legs at rest and during exercise in healthy subjects. Acta Physiol. Scand. 52, 328. 1961.
- 10.- Krasnow, N.; Neill, W. A., Messer, J. V. and Gorlin Richard.; Myocardial lactate and pyruvate metabolism. J. Clin. Invest. 41, 2075, 1962.

- 11.- Cantarow, A., and Trumper, M...; Clinical Biochemistry. 6o. Ed. W. B. Saunders Company Philadelphia. London 1962.
- 12.- Greeberg, D.M. editor. Metabolic. Pathways. 2a. Ed. Academic. Press. New York. 1960. Cap. 3o. y 4o.
- 13.- Hoffmann, W.S. The Biochemistry of clinical medicine. 3o. Ed. Year Book Medical Publishers Inc. Chicago 1964.
- 14.- Hershey, S.G.M.D. editor. "Shock". Cardiac deterioration in shock by Guyton A.C. and Crowell J. W. 1. Little Brown and Co. 1964.
- 15.- Edwards, W.S., Siegel, A., R.J. Studies on myocardial metabolism. III Coronary blood flow, myocardial oxygen consumption and carbohydrate metabolism in experimental hemorrhagic shock. J. Clin. Invest. 33: - - 1646, 1954.
- 16.- Sernoff, S. J., Case, R.B., Waithe, P.E., and Isaacs, J. P. Insuffi-
cient coronary flow and myocardial failure as a complicating factor in -
late hemorrhagic shock. Am. J. Physiol. 176: 439, 1954.
- 17.- Gomez, G. Funtional cardiac deterioration during the development -
of hemorrhagic circulatory deficiency. Fed. Proc. 21: 117, 1962.
- 18.- Barker, S.B. and Summerson, W. H. The colorimetric determination -
of lactic acid in biological material. J. Biol. Chem. 138, 535, 1941.
- 19.- Friedmann, T.E., and Haugen, G.E., Pyruvic Acid. II-The determina-
tion of ketoacids in blood and urine. J. Biol. Chem. 147, 415.1943.
- 20.- Bradford, Hill, a Principles of medical statistics. The lancet ---
Limited. London 1961.
- 21.- Platt, B.S., and Lu, G.D. Studies on the metabolism of pyruvic - -
acid in normal and by deficient states. IV. The accumulation of pyru- -
vic acid and other carbonil in beri-beri and the effect of vitamin. --
Biochem. J. 1525, 33, 1939.

- 22.- Friedmann, T.F., Haugen, G.E., and Kmiecick K., T.C. Pyruvic -- acid III. The level of pyruvic and lactic acids, and the lactic-pyruvate ratio in the blood of human subjects. The effect of food, light-muscular activity and anoxia at high altitude. J. Biol. Chem. 673, - 157, 1945.
- 23.- Bueding, E., Wortis, H., and Stern, M. Pathological variations in blood and spinal fluid pyruvic acid. J. Clin. Invest. 85, 21, 1942.
- 24.- Goldsmith, G.A. The blood lactate-pyruvate relationship in various physiologic and pathologic states. Amer. J. Med. Sci. 182, 215, 1948.
- 25.- Bueding, E., and Wortis, H. The stabilization and determination of pyruvic acid in the blood. J. Biol. Chem. 585, 133, 1940.
- 26.- Huckabee, W.E., Control of concentrations gradients of pyruvate and lactate across cell membrane in blood. S. ppl. Physiol. 163, 9, - 1956.
- 27.- Book, A.V., Dill, D.B., and Edwards, H.T. Lactic acid in blood of resting man. J. Clin. Invest. 775, 11, 1932.
- 28.- Weiss, S., and Ellis, L.D. Oxygen utilization and lactic acid - production in the extremities during rest and exercise. Arch. Intern. Med. 665, 55, 1935.
- 29.- Hallock, P. Lactic acid production during rest and after exercise in subjects with various types of heart disease, with special reference to congenital heart disease. J. Clin. Invest. 385, 18, 1939.
- 30.- Decker, D.G., and Rosenbaum, J.D. The distribution of lactic -- acid human blood. Amer. J. Physiol. 7, 138, 1942.
- 31.- Bay, F., Barrow, F.S.G., Adams, W., Case, T., Haldstead, W.C. - and Ricketts, H.T. The behavior of blood lactate and pyruvate with - exercise at sea-level and altitude. Part III. National Research Council Report 344. Committee on Aviation Medicine 1944. (Cited por 3).
- 32.- Lundholm, L., Mohme-Lundholm, E., and Vamso, N. Enzymatic determination of lactic acid. Acta Physiol. Scand. 243, 58, 1963.
- 33.- Brode, G., and Weil, M.H. Excess lactate.- An index of reversibi-

lity of shock in human patients. Science. 1457, 143, 1964.

34.- S. Attar, W.G. Esmond R. A. Cowley , J.

Thorac Cardiovasc. Surg. 44, 749, 1962 (citado por 33)