

UNIVERSIDAD MOTOLINIA
FACULTAD DE QUIMICA
INCORPORADA A LA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES GLI-
CEMICAS DE LA SANGRE CAPILAR
Y LA SANGRE VENOSA

TESIS

QUE PRESENTA PARA SU EXAMEN PROFESIONAL
DE QUIMICO - FARMACEUTICO - BIOLOGO

ANA ROSA CUBERO ROJAS

MEXICO, D. F. 1951



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.

Con todo respeto a mi H. Jurado.

*Afectuosamente a la
Universidad MOTOLINA
y a todos mis maestros.*

A mis compañeras.

*Con cariño y agradecimiento
al Dr. José Puche Alvarez.*

A los Laboratorios IQFA.

A mis padres

A mi tío Ramón.

SUMARIO :

- Capítulo I.—Introducción.
- Capítulo II.—Métodos Utilizados.
- Capítulo III.—Resultados Obtenidos.
- Capítulo IV.—Discusión.
- Capítulo V.—Resumen y Conclusiones.
- Capítulo VI.—Bibliografía.

CAPITULO I.—Introducción.

El estudio sistemático de la glucemia constituye uno de los capítulos más favorecidos de la Bioquímica y es razonable que así sea, teniendo en cuenta la posición clave que ocupa este compuesto dentro del metabolismo general de los principios inmediatos, la facilidad y exactitud de sus determinaciones y además, los trastornos que acarrea la variación de sus valores, ya sea en sentido positivo, hiperglucemia, o en sentido negativo, hipoglucemia.

No voy a intentar la ardua tarea de remover o aducir la extensa bibliografía que sobre el particular existe, encuadrada principalmente en los trabajos de Macleod, J.J.R. (1), Cori C.F. (2), Soskin S. (3), Somogyi M. (4), (5), (6), M. Hansen (7), R. Hathehol (8), Hagedorn H. S. (9) y Peters J.P. y V. Slyke D.D. (10).

El contenido de esta tesis, va a concretarse al estudio de los valores obtenidos con la determinación simultánea de la glucemia, en las sangres capilar y en la venosa.

Desde que Chaveau (11) dió la primera noticia acerca de las diferencias observadas en el contenido del azúcar sanguíneo de las arterias y de las venas, éste aspecto de la regulación glucémica pasó por varias alternativas, desde los que negaron la existencia de aquélla variación, a los que atribuían significaciones diversas a la misma.

Nuestros conocimientos sobre esta cuestión progresaron con la adopción de los micrométodos para determinar el azúcar sanguíneo. Bang (12) determina el valor de tales diferencias que también son confirmadas por in-

vestigadores americanos con los métodos de Benedict, Folin y sus modificaciones. Hagedorn (9), con su método, amplía y ratifica los resultados precedentes, así como Foster (13), Friedenson y colaboradores (14), Lunds-gaard y Holboll (15), Glassberg (16), Cavett J. W. y Sel-jesko S. R. (17), Cori (1) y Puche (18) y (19).

Más recientemente Somogyi (20), (21), (22) y (23), con su indiscutible autoridad y experiencia, ha insistido sobre el problema, afinando sus propios métodos, con los que obtiene resultados que en lo fundamental se apartan poco de los aducidos en trabajos precedentes.

CAPITULO II.—Métodos Utilizados. ●

Ha sido, merced al uso de los micrométodos para la determinación del azúcar sanguíneo, como han podido esclarecerse los problemas fundamentales que afectan a la regulación de esta constante fisiológica. Dejando aparte el método de Bang (12), que tuvo su mayor difusión hace un cuarto de siglo, los métodos que en éstos últimos años se han utilizado más asiduamente, han sido, el de Hagedorn Jensen (7), con sus variantes, los de Folin (24), Benedict (25), Somogyi (26), (27), (28) y sus modificaciones.

Somogyi (27) se ha inclinado para el perfeccionamiento de sus métodos, por el uso de los reactivos de cobre, dando como razón principal la de que los reactivos de cobre oxidan a los azúcares más selectivamente que los que poseen hierro.

Esto se manifiesta claramente por el hecho que en filtrados sanguíneos desproteinizados por el método de Folin Wu, otras sustancias que no son azúcares reducen de dos a cuatro veces más el hierro que el cobre (26).

Parece evidente que el ferricianuro posee la propiedad, en contraste con el óxido cuproso, de no ser reoxidado por el oxígeno atmosférico, una vez que es reducido a ferrocianuro; más es posible proteger el óxido cuproso contra la reoxidación, saturando la solución reactivo, con Na_2SO_4 . Evitada la reoxidación de este modo, es posible determinar con reactivo de cobre cantidades del orden de 0.01 mg. de glucosa o cualquier otro azúcar de análogo poder reductor.

El estudio de comportamiento de las soluciones de cobre del tipo de Somogyi, preparadas indistintamente respecto al efecto de las distintas constituciones de estas soluciones sobre las equivalentes de reducción de aquellos azúcares. Se ha verificado además que al disminuir la alcalinidad se obtienen valores más altos en determinadas de pequeñas cantidades de azúcares. La disminución de la alcalinidad por otra parte, hallase vinculada con la disminución de la velocidad de la oxidación y se requiere mayor tiempo de calentamiento de las mezclas reactivas. Esto constituye una fuente de dificultades cuando los azúcares objeto de valoración reaccionan más lentamente que la glucosa. En consecuencia la alcalinidad del reactivo de cobre tendría que ser más alta para la determinación de maltosa o de otros cualquier azúcar que reaccione lentamente.

Estos antecedentes llevaron a Somogyi a elaborar un nuevo reactivo cuya composición se adaptara a las condiciones más favorables para obtener una buena estabilidad y sensibilidad del mismo.

Composición del reactivo de Somogyi.

28 gr. de fosfato disódico anhidro; 100 cc. de NaOH normal; 40 gr. de sal de la Rochella, 8 gr. de CuSO_4 cristalizado y 180 gr. de sulfato de sodio anhidro. Completar hasta 1000 c. c.

Preparación: El fosfato y el tartrato son disueltos en 200 c. c. de agua, el NaOH es agregado después y luego se añade la solución de sulfato de cobre (80 c. c. al 10%), depurando esmeril sobre las paredes del recipiente, finalmente es agregado el sulfato de sodio y cuando se disuelve, se diluye la solución hasta un litro y se deja en reposo uno o dos días. Durante este tiempo se separan las impurezas, la parte clara de la solución se decanta y el resto se filtra a través de un buen papel filtro. El reactivo se conserva indefinidamente.

He podido notar que a la temperatura ambiente de los meses de invierno (México, D. F.), se produce una copiosa cristalización de sulfato de cobre que afecta gravemente la estabilidad del reactivo.

Este reactivo puede utilizarse lo mismo para la determinación yodométrica del azúcar sanguíneo que para la técnica colorimétrica, tomando la precaución, al seguir éste último, de no añadir yoduros ni yodatos.

Antes de decidirme por la técnica colorimétrica de Somogyi y Nelson, (2) quise asegurarme de la fidelidad del método, para lo cual realicé una serie de determinaciones con el método indicado; comparando mis resultados de cuádruples y quintuples determinaciones con las obtenidas por otros autores Hansen M. (7) con el método de Hagedorn-Jensen y con mis observaciones personales por el método de Hagedorn modificado, así como algunas comprobaciones utilizando el método yodométrico de Somogyi.

Las diferencias encontradas por Hansen M. en sus determinaciones con el método de Hagedorn, en su técnica original (7) oscilan entre 4 y 8 mg. de glucosa por 100 c. c. de sangre.

Mis resultados personales con el método de Hagedorn modificado fueron semejantes, obteniendo diferencias de 4 mg. % en las determinaciones seriadas. Sin embargo, las objeciones hechas al método de ferricianuro por Folin y Malinos (24) y por Kramer y Steiner (29), así como las ventajas comprobadas con el manejo del colorimétrico de Somogyi-Nelson, decidíronme por éste último.

Los datos obtenidos con el método colorimétrico de Somogyi-Nelson en determinaciones seriadas fueron las siguientes:

1a. Serie	2a. Serie	3a. Serie	4a. Serie	5a. Serie
61	82	75	91	64
64	83	73	93	66
60	84	74	92	67
61	84	75	92	66
61				

6a. Serie	7a. Serie	8a. Serie	9a. Serie	10a. Serie
50	60	85	66	80
51	64	84	66	80
51	60	84	67	82
52	64			
53	61			
51				

11a. Serie	12a. Serie	13a. Serie
62	80	72
65	80	70
63	84	71
63		
62		

Los datos obtenidos con el método yodométrico de Somogyi en determinaciones seriadas fueron las siguientes:

1a. Serie	2a. Serie	3a. Serie	4a. Serie
58	70	63	53
59	70	62	53
59	71	62	51
62			54

5a. Serie	6a. Serie	7a. Serie
45	83	66
43	82	68
42	80	67
43	80	
43		

Por lo tanto, como he dicho, opté por utilizar el método colorimétrico, reservando la determinación yodométrica como comprobación de la exactitud de la colorimétrica. A continuación doy los detalles de las técnicas seguidas:

Desproteínización de las muestras de sangre:

Otro cambio introducido por Somogyi en sus técnicas es la desproteínización de la sangre con $ZnSO_4$ y $Ba(OH)_2$.

Las razones que dá para explicar esta variación son las siguientes: Es adecuada tanto para sangre total como para plasma y suero; gracias a la capacidad adsorbente del sulfato de Bario, puede ser aplicado también para la purificación de orina, de extractos musculares y hepáticos, etc., otra ventaja del uso del hidróxido de Bario es que no introduce sales en el filtrado, condición deseable en algunos tipos de estudio; un tercer servicio rendido por el $Ba(OH)_2$, es que precipita los anticoagulantes como el fluoruro y el oxalato. Cuando éstos se presentan en cantidades desproporcionadas, hecho relativamente frecuente en muestras de sangre, el exceso puede interferir con la desproteínización, dificultándola.

Reactivos para la desproteínización:

Solución de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ al 5% y solución de Hidróxido de Bario 0.3N.

La exactitud de estas concentraciones, es menos importante que el requisito de que el álcali neutralice a la solución de sulfato de Zinc, precisamente volumen a volumen, usando Fenolftaleína como indicador. Para desproteínizar la sangre, se agrega una cantidad exactamente medida, a una cantidad adecuada de agua y se añade el álcali después, a razón de dos volúmenes por cada volumen de sangre, después se agrega el sulfato de Zinc en la misma cantidad que el álcali, se agita vigorosamente y se filtra. Si los reactivos están correctamente ajustados, la precipitación es perfecta, lo que se manifiesta por la ausencia de espuma al agitarse, por la rapidez de filtración y por el color del precipitado.

En la siguiente tabla están representadas seis variantes del proceso de desproteínización, adaptados a diversas cantidades y diluciones de sangre:

Proceso	Agua	Sangre	0.3 N álcali	ZnSO ⁴ 5%	Volumen total	Dilución
No.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	
1	5.0	1.0	2.0	2.0	10.0	1:10
2	7.5	0.5	1.0	1.0	10.0	1:20
3	7.0	0.2	0.4	0.4	8.0	1:40
4	7.5	0.1	0.2	0.2	8.0	1:80
5	3.0	0.2	0.4	0.4	4.0	1:20
6	3.5	0.1	0.2	0.2	4.0	1:40

Técnica colorimétrica

Según Somogyi (27), la determinación yodométrica de cobre reducido es indudablemente superior a la técnica colorimétrica, pero sólo cuando se utilizan colorímetros de tipo Dubosq, la intensidad del color que se ha de medir es relativamente inestable. La medida fotoeléctrica de la densidad del color y perfeccionamiento del reactivo colorimétrico han sido realizadas por Nelson (28). Con este reactivo se eliminan las imperfecciones de la técnica colorimétrica cuando es empleada en microdeterminaciones. En su adaptación del reactivo, Nelson ha conseguido extender la sensibilidad del mismo a determinaciones de 5 γ de glucosa, mientras que la técnica yodométrica alcanza 10 γ como límite. Este perfeccionamiento fué posible con el empleo del reactivo arsenomolibdico, descubierto por Nelson, el cual produce un color de mayor intensidad y estabilidad que el obtenido con el reactivo fosfomolibdico.

Reactivo Arsenomolibdico:

25 gr. de molibdato de amonio, 21 c. c. de Ac. Sulfúrico concentrado, 3 gr. de Na₂HAsO₄·7H₂O y 450 c. c. de agua destilada.

Preparación:

Disolver 25 gr. de molibdato de amonio en 450 c. c. de agua destilada, agréganse 21 c. c. de Ac. Sulfúrico concentrado, mezclar añadir 3 gr. de Na₂HAsO₄·7H₂O disueltos en 25 c. c. de agua, mezclar y ponerlo en la estufa a 37° C. por 24 ó 48 horas. Este procedimiento siempre tiene éxito y se verifica la formación del compuesto cromógeno. Si se necesita obtener el reactivo rápidamente, puede calentarse a 55° C. durante 25 minutos más o menos. No obstante hay que evitar el sobrecalentamiento, porque puede ocurrir la descomposición del cromógeno y ésta es acompañada por la precipitación de un compuesto amarillo brillante. Se guarda en una botella ámbar con tapón de vidrio.

Procedimiento analítico:

En un tubo de ensayo de 16 x 150 mm., colócanse 2 c. c. del reactivo de cobre de Somogyi y 2 c. c. de la solución de azúcar en estudio; los tubos de ensayo se tapan con canicas de vidrio. Se sumergen en baño de agua hirviendo durante 20 minutos. (Aumentamos el tiempo de ebullición en razón que la temperatura de ebullición del agua en México, D. F., es 92.5° C. obteniendo una solución de Cloruro de Calcio saturada pudimos elevar la temperatura de ebullición del baño a 100° C. En estas condiciones 10 minutos de ebullición son suficientes de acuerdo con lo que dice el método original.)

De todas maneras, consideré más cómodo aumentar el tiempo de ebullición que recurrir a la solución saturada de Cloruro de Calcio. Enfriase después con agua corriente y se agrega el reactivo cromogénico de Nelson, diluyendo finalmente hasta un volumen definido de 10 a 25 c. c., según sea la cantidad de azúcar esperada. La lectura fotométrica fué realizada en el colorímetro Klett-Summerson usando filtro rojo No. 66 (dentro de las variaciones de 640 a 700 milimicrones).

Comparamos los resultados de los problemas con escalas de solución de glucosa dentro de los valores de las variaciones previsibles.

Técnica Yodométrica

Para la medición yodométrica del cobre reducido al análisis puede llevarse a cabo de la misma manera que la indicada para la técnica colorimétrica, con la diferencia de que se agrega, al reactivo de cobre de Somogyi, solución normal de yodato de potasio en proporción variable de 5 a 25 c. c. de yodato por litro de reactivo según se opere con soluciones menos o más concentradas de azúcar.

Después de enfriamiento agrégase el Yoduro de Potasio en cantidad apropiada al yodato, se acidifica la mezcla con solución de Ac. Sulfúrico 2 N. y después de oxidación completa del cobre cuproso, el yodo libre es titulado con solución de tiosulfato 0.005 N.

Cuando el reactivo contiene 5 c. c. de yodato normal por litro, se agrega después de enfriamiento 0.5 c. c. de KI. al 2.5%. La solución de KI, se añade dejando escurrir la solución por la pared del

tubo sin agitar, a continuación se agrega el ácido alrededor de 1.5 c.c. de Ac. Sulfúrico 2 N. El ácido debe incorporarse rápidamente, haciendo que el contenido del tubo se acidifique y mezcle de una vez.

Para la titulación se usa solución de tiosulfato 0.005 N. Debe ser preparado recientemente diluyendo solución de tiosulfato 0.1 N.

Cada c. c. de tiosulfato corresponden a 0.135 mg. de glucosa y se hacen los cálculos correspondientes a la cantidad del filtrado y a la dilución de la sangre, teniendo la precaución de hacer una prueba en blanco (de preferencia con cada serie de determinaciones para más exactitud) para de ella restar los valores obtenidos en la titulación de cada determinación.

Recolección de los datos:

Las observaciones realizadas por otros autores acerca de las diferencias del contenido de glucosa en sangres arterial-venosa se refiere, sin excepción, a casos individuales. Por la naturaleza del problema y para asegurarme de los resultados obtenidos, he preferido realizar mis observaciones sobre un grupo de sujetos en los cuales, realicé en un lapso de cuatro semanas cuatro pruebas de hiperglucemia provocada consecutivas. De esta suerte creemos ganar homogeneidad de los resultados, sin perjuicio de la exactitud requerida en el problema.

Los sujetos de observación hallábanse sistemáticamente en ayunas, con periodos post-prandiales entre 12 y 14 horas. La mayor parte de las observaciones recogidas, lo fueron en individuos del sexo femenino, por ello evité la coincidencia de la prueba con el periodo catamenial. La alimentación observada por los individuos componentes de esta serie de observaciones fué la habitual en ellos.

La administración de glucosa efectuóse siempre por vía oral a la dosis de 50 gr. disueltos en 225 gr. de infusión de té muy ligera.

Obtuve las muestras de sangre casi simultáneamente tomando primero la mitad de la sangre capilar por punción en el pulpejo de los dedos de la mano, a media ope-

ración se obtuvo la sangre venosa, y, una vez obtenida ésta, completé el resto de la toma de sangre capilar. A pesar de estas precauciones no creo haber podido obviar completamente las dificultades inherentes para hacer simultáneas las tomas, ya que algunas veces, por dificultades de la punción venosa, transcurrió un lapso de algunos minutos entre la obtención de las muestras correspondientes a cada una de las muestras. Tampoco pudo evitarse siempre, el factor emocional coincidiendo con las tomas de sangre, factor, que puede determinar variaciones en el contenido de azúcar circulante bastante considerables. En algunos casos hube de recurrir al calentamiento de la mano de los pacientes para facilitar la circulación en las pequeñas arteriolas y capilares y obtener con mayor facilidad las muestras. Estas fueron recogidas en tubos de pequeña longitud con solución de Fluoruro de Sodio desecado o con Fluoruro de Sodio cristalizado en los tiempos siguientes: ayunas, y 30, 60 y 120 minutos después de ingerir glucosa.

Tuve que abandonar el uso del fluoruro de Sodio unido al oxalato potásico, porque en alguna ocasión (tal vez por exceso de aquéllas sustancias) se produjo precipitación defectuosa de las muestras.

Prevenida por las aseveraciones de Somogyi (20) respecto a la exactitud de los micrométodos para esta clase de trabajo, opté por utilizar las tomas de 0.5 c. c. de sangre de cada muestra siguiendo la coagulación correspondiente al proceso No. 2 del cuadro 1, que da una dilución de 1 x 20, la cual según mi experiencia proporciona una mayor aproximación en las determinaciones repetidas.

CAPITULO III.—Resultados Obtenidos.

A continuación transcribo los resultados de nuestra asuística en forma de cuadro:

No.	Nombre	Edad	Sexo	Estatura	Peso Kgr.	Glucemias mg por 100 c. c.								
						Venosas				capilares y				
						Av.	30	60	120	Av.	30	60	120	
1	J.P.	34	M.	169	72	76	101	100	66	84	132	105	66	
						72	85	78	58	80	101	97	69	
						76	97	96	64	76	110	105	64	
						70	110	126	76	78	135	142	78	
2	J.H.	21	F.	135	56	63	82	67	62	80	132	93	86	
						64	83	75	70	83	126	100	82	
						64	91	79	66	83	148	116	106	
						67	89	78	63	77	131	106	82	
3	E.S.	38	F.	150	88	88	134	128	63	94	164	140	80	
						82	140	103	76	86	162	151	77	
						85	129	116	66	90	171	124	74	
						77	125	102	81	95	140	135	86	
4	V.S.C.	50	F.	156	72	82	132	130	64	98	170	172	82	
						100	154	102	64	110	190	136	80	
						82	127	97	77	93	151	149	102	
						68	98	98	88	82	143	152	103	
5	F.N.	42	M.	181	90	102	160	162	98	138	178	210	102	
						106	136	177	130	126	176	218	152	
						102	163	166	102	112	198	220	136	
						104	135	172	82	112	160	180	109	
6	A.B.C.	22	F.	160	47	70	111	107	54	88	154	152	70	
						77	146	99	58	84	160	132	73	
						72	85	92	60	76	103	135	79	
						79	146	106	71	83	162	140	94	
7	I.A.	26	F.	154	56	52	78	77	66	91	103	104	96	
						80	93	70	61	96	146	119	93	
						72	80	68	58	94	128	107	69	
						78	116	103	83	93	140	116	99	
8	C.D.O.	26	F.	152	51	74	105	90	67	80	110	102	91	
						70	86	75	62	88	128	98	85	
						68	101	87	80	75	134	123	102	
						63	87	80	79	73	126	125	99	
9	T.M.	25	F.	151	49	78	88	83	72	96	106	94	80	
						85	89	79	63	92	124	99	82	
						66	76	72	70	77	101	86	81	
						72	82	80	69	78	132	105	90	
10	A.B.	26	F.	150	45	80	96	69	61	84	104	98	81	
						61	98	69	66	74	132	102	96	
						61	85	68	58	77	132	94	81	
						76	79	59	59	83	125	104	82	
Glucemias máximas						122	163	182	130	138	198	220	152	
Glucemias mínimas						61	76	59	54	73	101	86	64	
Glucemias medias						78	107	98	75	88	139	127	87	
Excluyendo el caso F.N. (3):														
Glucemias máximas						100	154	130	88	110	190	172	106	
Glucemias mínimas						61	76	59	54	73	101	86	64	
Glucemias medias						74	103	89	67	85	135	118	84	

Como promedio resultó una diferencia de 2%.

Diferencia máxima 76%.

Diferencia mínima: 0

Examinadas las cifras resultantes de las observaciones recogidas, se destaca la coincidencia de los valores obtenidos con nuestros métodos, con aquellos publicados con anterioridad por otros autores; Friedenson, Rosenbaum, Thalheimer y Peters (14), Puche (19), etc. No así con los de Cavett (17), que obtiene gluemias y variaciones más elevadas que las nuestras. Cabe decir que el método de Gibson empleado por Cavett y Seljeskog, no ofrece las garantías de exactitud deseables, aunque su autor asegura que el margen de error del método se halla alrededor de 6 mg. %. Los datos de Somogyi (20) con la técnica yodométrica, no son comparables con los nuestros, excepto los valores en ayunas, por las cantidades de glucosa que utiliza en sus observaciones. (10, 25 y 100 gr.)

No obstante el promedio de variación de la g. a. g. v.* en ayunas, de Somogyi, fué de 4.8 mg. % sobre 44 casos y la variación de las g. a. g. v. 1 hora después de ingerir 100 gr. de glucosa, es muy próxima (35.5 mgs. %) a la que se manifiesta en nuestra casuística a los 30 minutos, fase de la mayor hipergluemia.

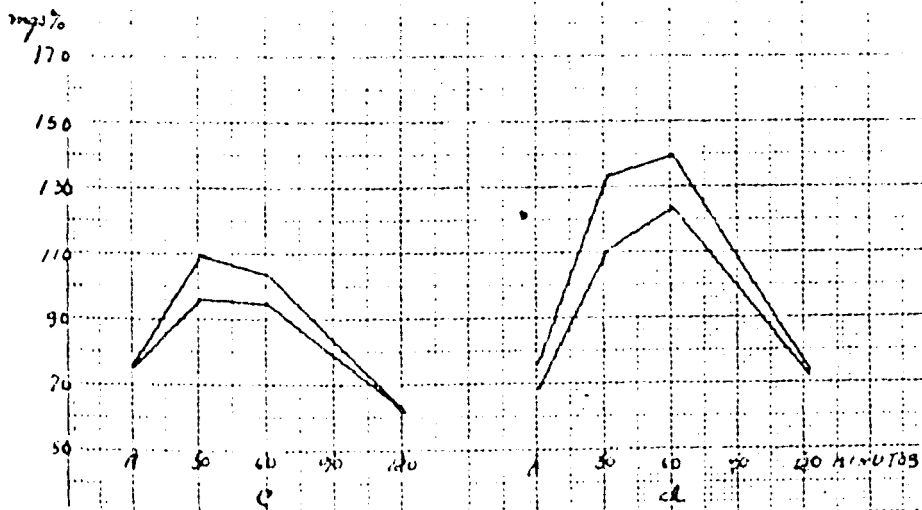
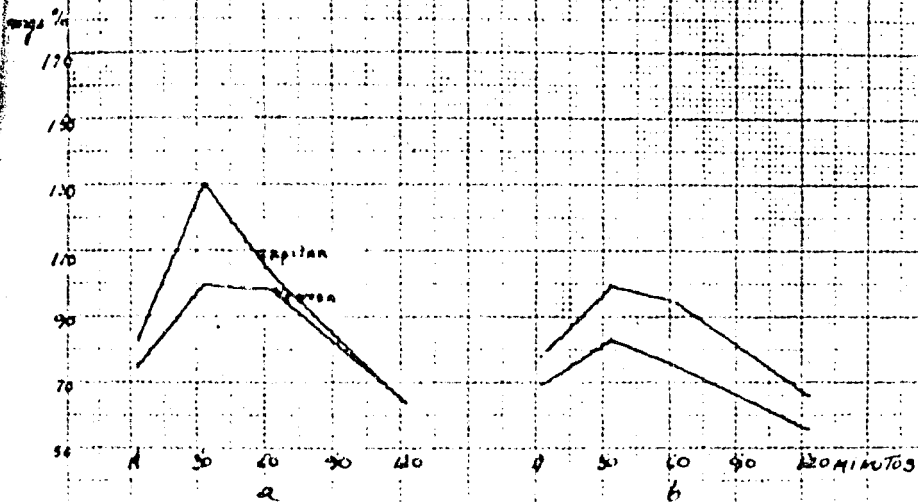
Volviendo a mis resultados debo advertir que siguiendo a Puche (19) quise establecer las relaciones estadísticas, que pudieran establecerse con ellas. Pero una revisión más atenta de los datos me obligó a prescindir de uno de los casos, por manifestar en él valores glucémicos que exceden de los que consideramos como normales, caso F.N. (No. 5) curva prediabética).

Prescindiendo de las cuatro curvas de este caso notamos que, si bien rebajan ligeramente los promedios aritméticos de la serie, no afectan fundamentalmente a los valores generales y tampoco a la diferencia g. a. g. v. en ayunas que queda en 10 mg. % sin este caso y pasa a 11, incluyéndolo.

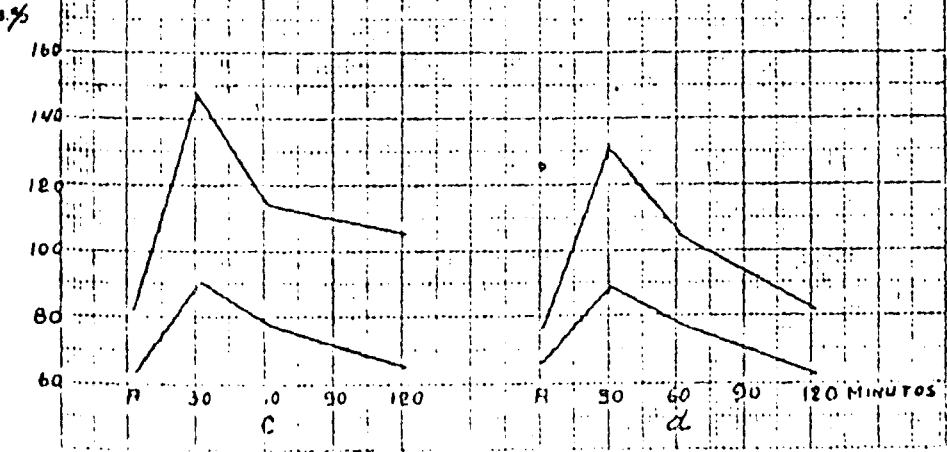
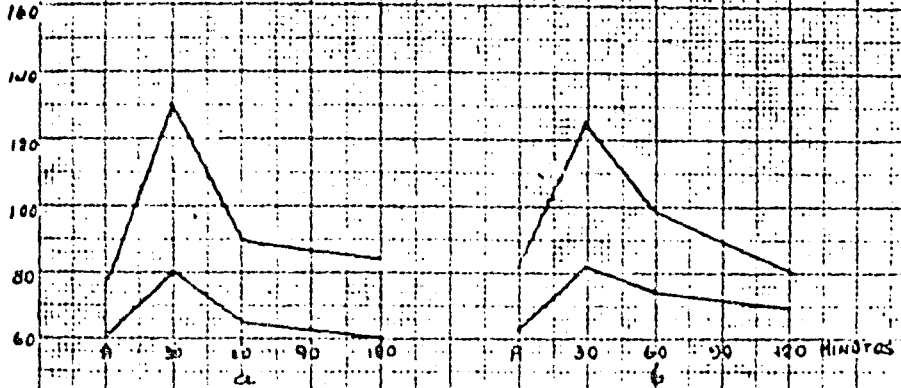
* g. a. Glucemia arterial. g. v. Glucemia venosa.

Nota: Se emplea g. a. g. v. porque como demostraron Foster y otros investigadores, la concentración de glucosa capilar es idéntica a la concentración de glucosa arterial.

JP 1



JH. 2



E 5. 3

mg.°.

180

160

140

120

100

80

60

0

30

60

90

120

a

0

30

60

90

120

MINUTOS

b

mg. %

180

160

140

120

100

80

60

0

30

60

90

120

c

0

30

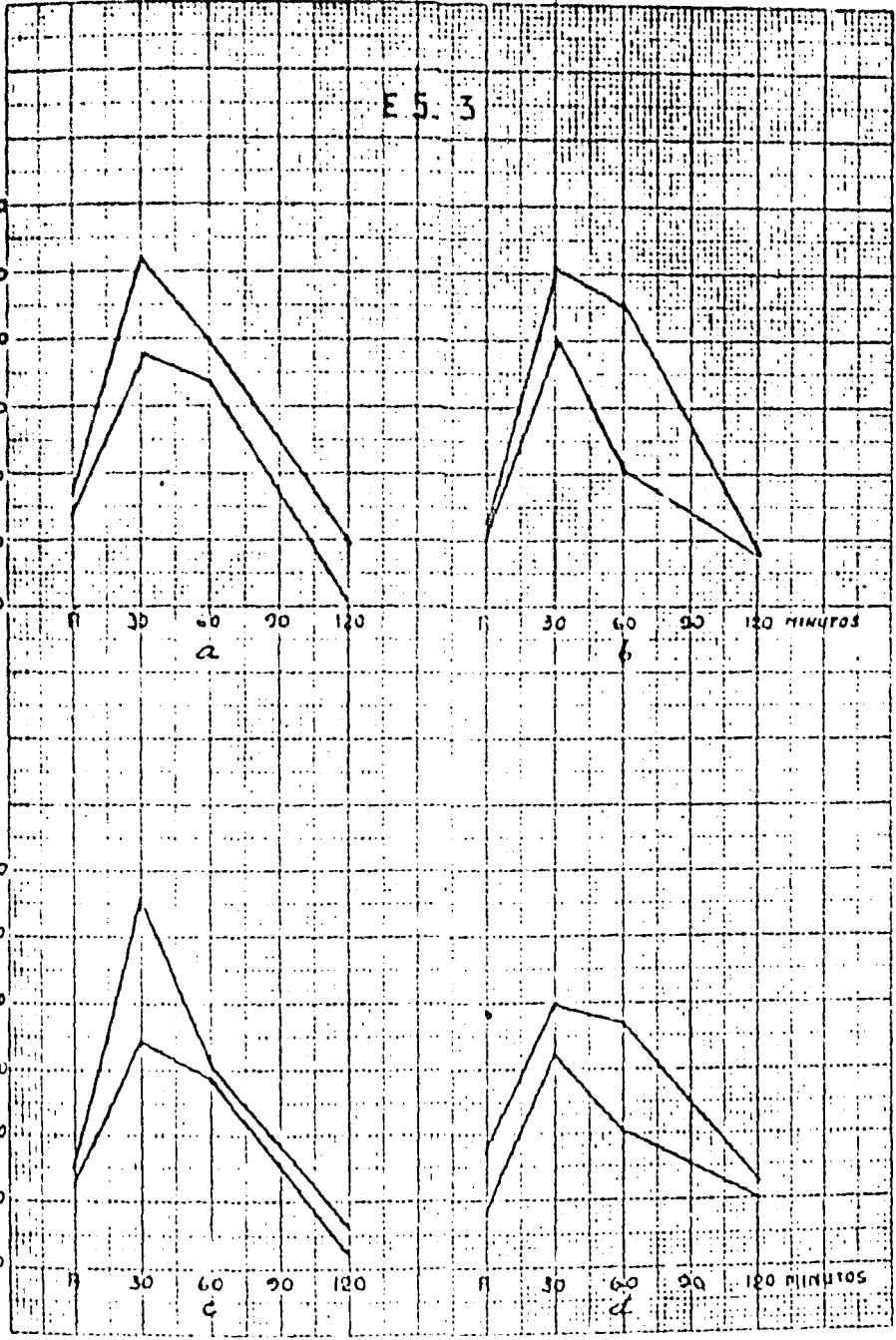
60

90

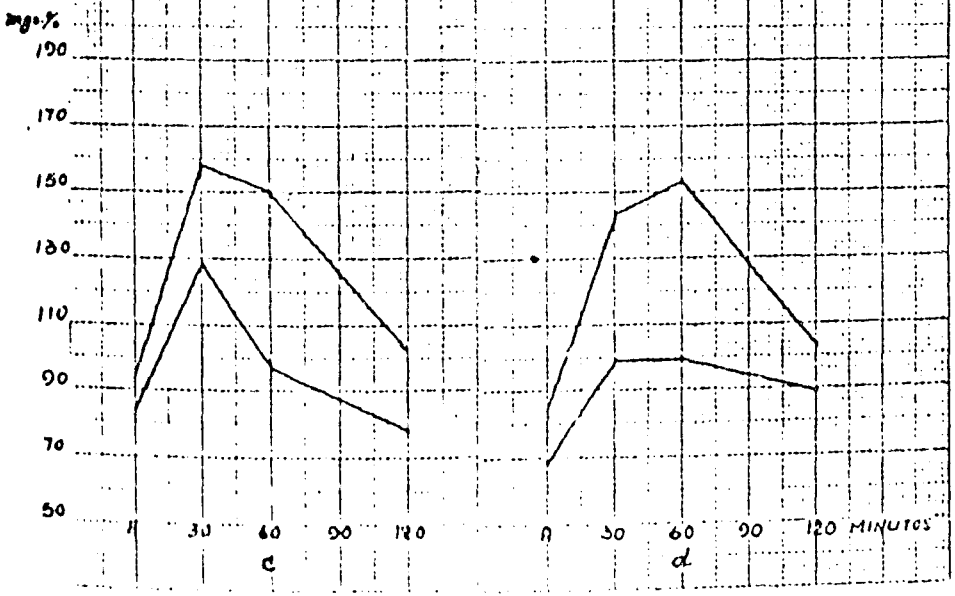
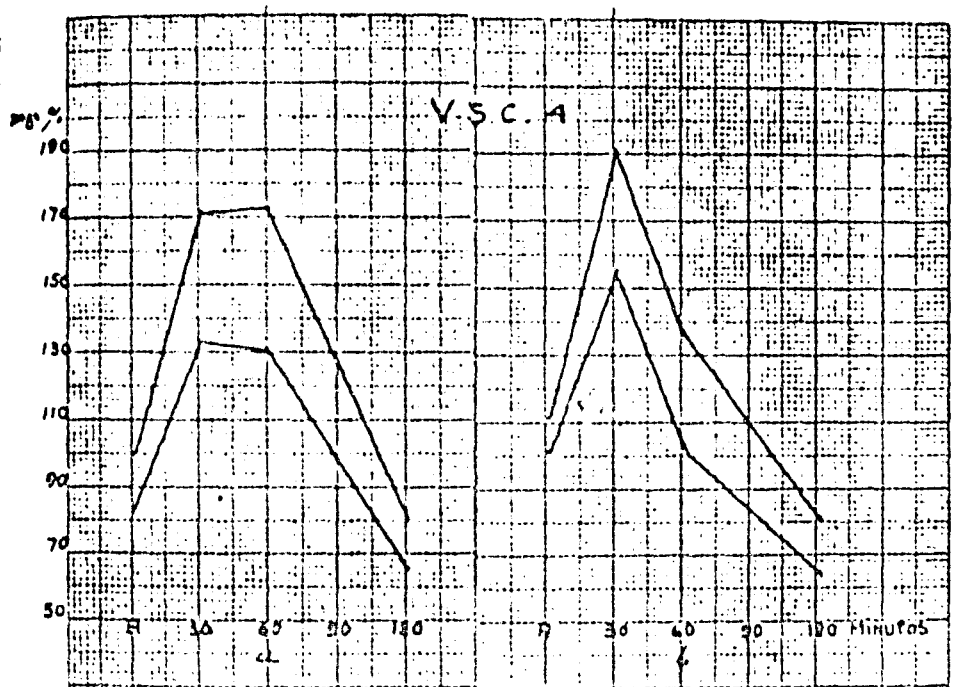
120

MINUTOS

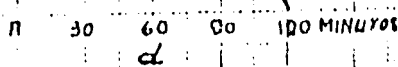
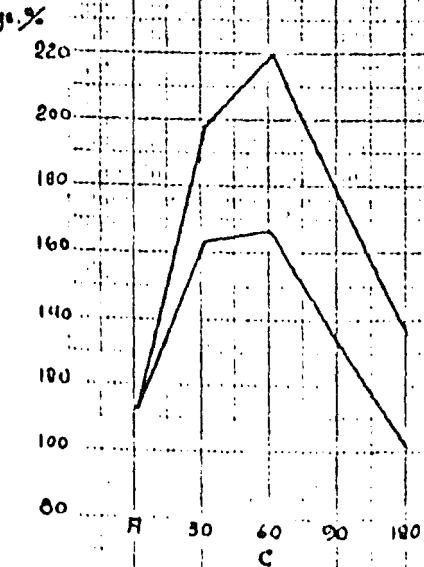
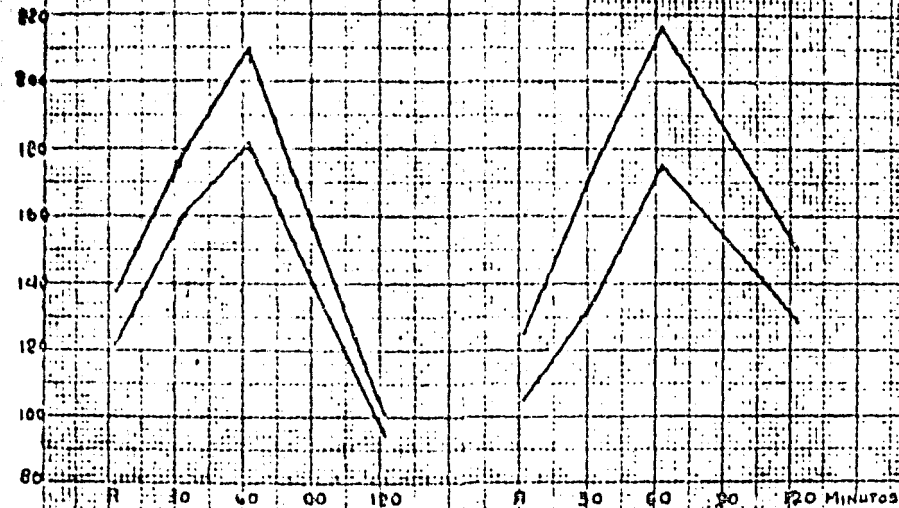
d



V.S.C. A

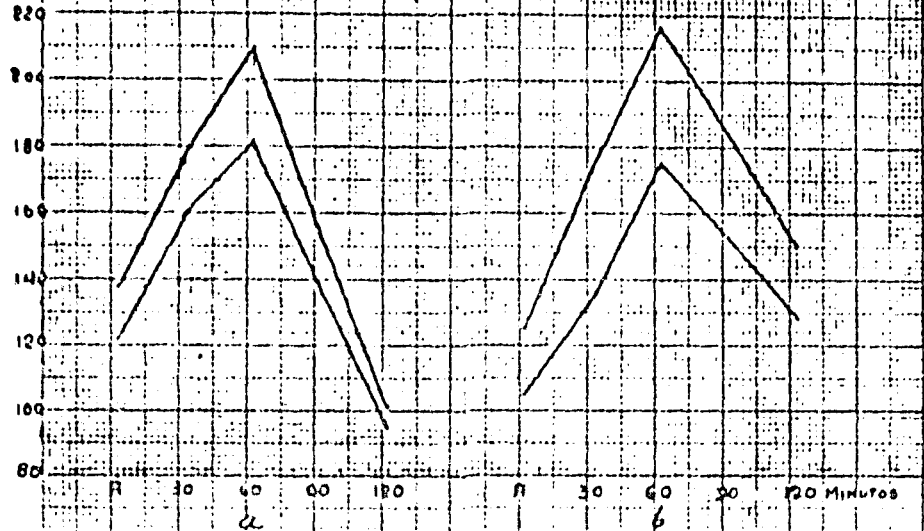


FN. 5

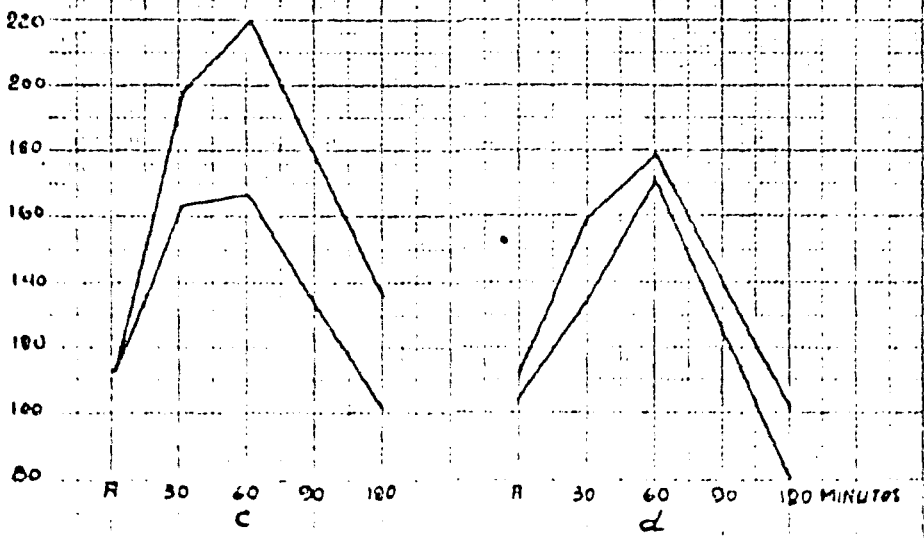


mg. %

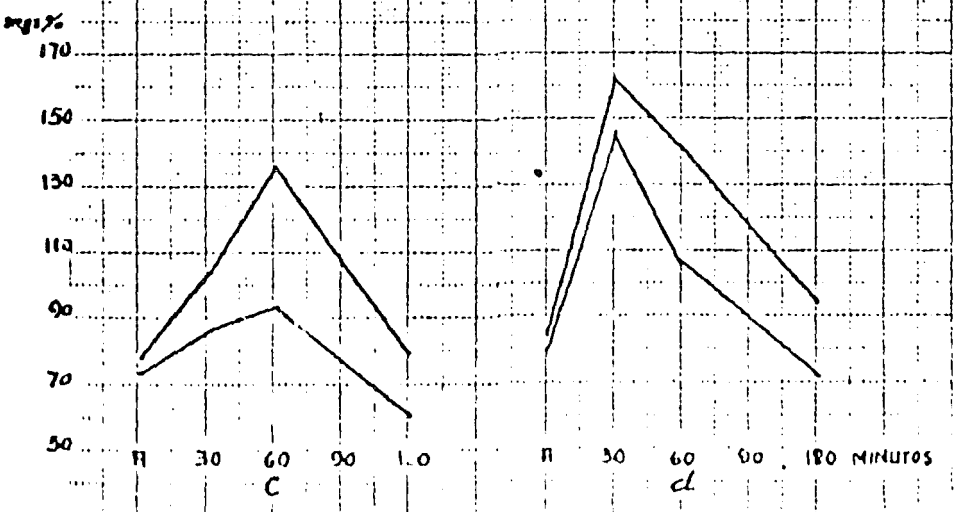
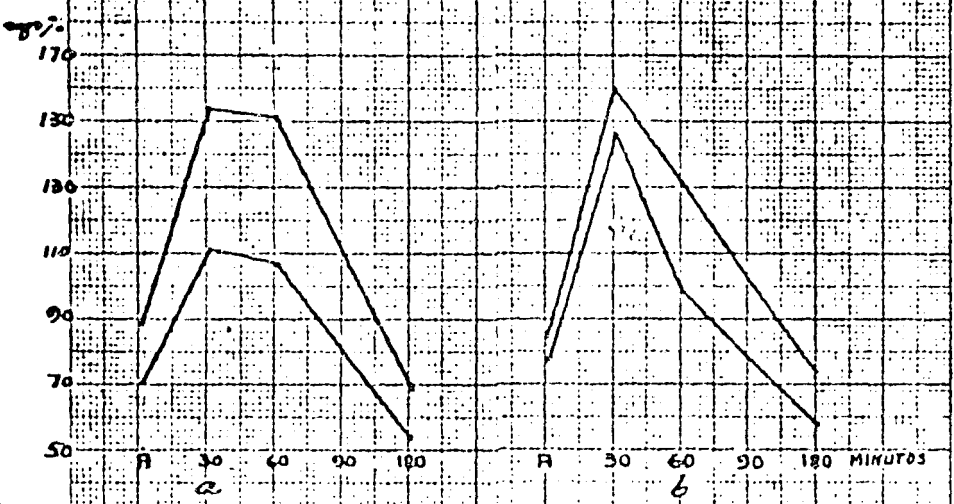
FN. 5



mg. %



A.R.C. 6



L.A. 7

mg. %

150
130
110
90
70
50

0 30 60 90 120 0 30 60 90 120 MINUTOS

a

b

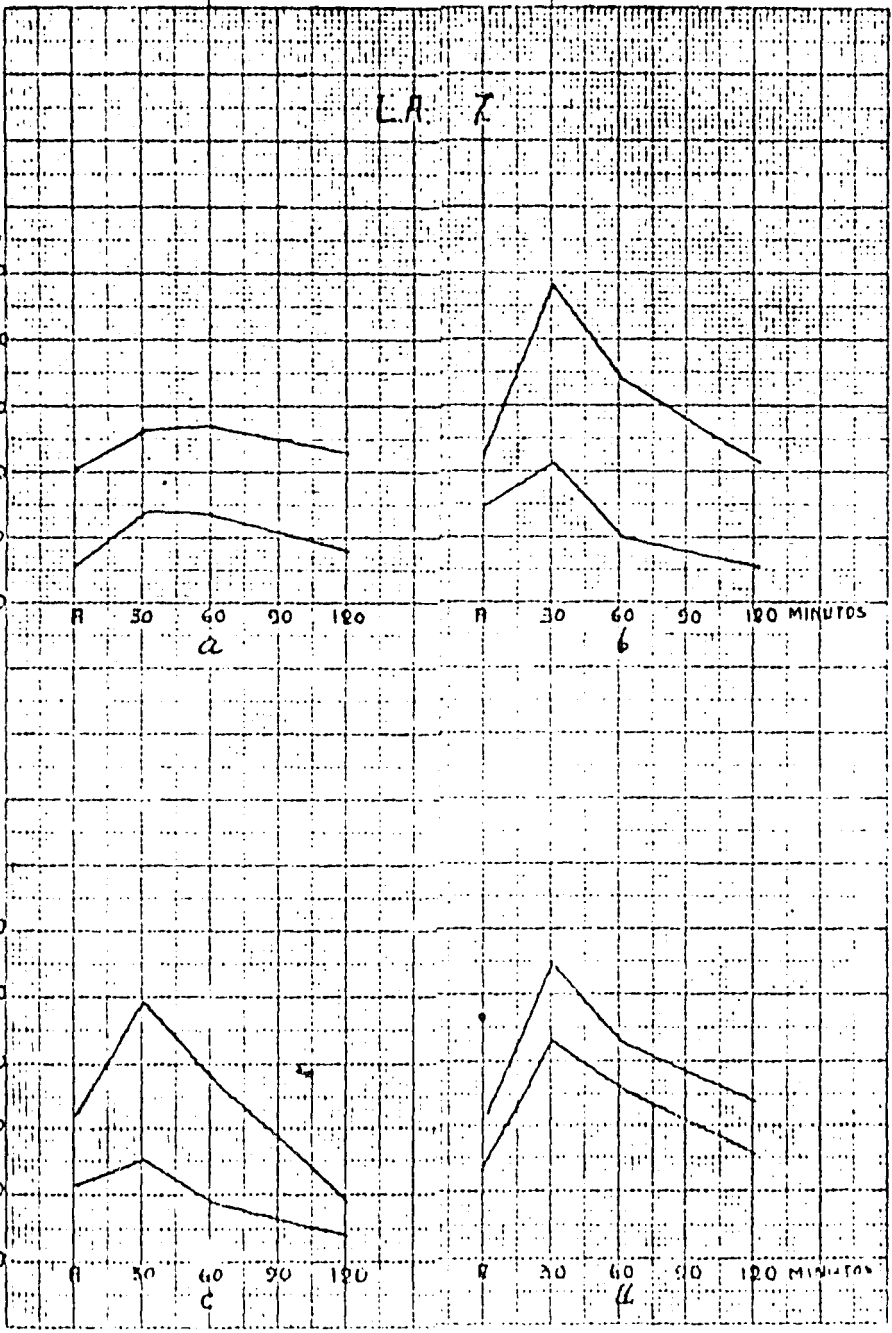
mg. %

150
130
110
90
70
50

0 30 60 90 120 0 30 60 90 120 MINUTOS

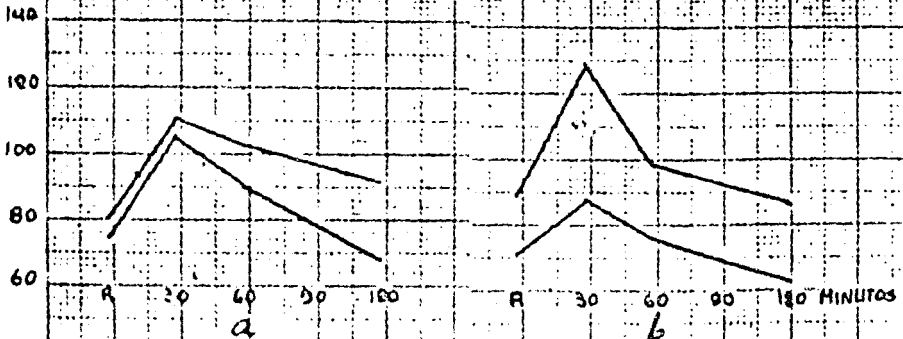
c

d

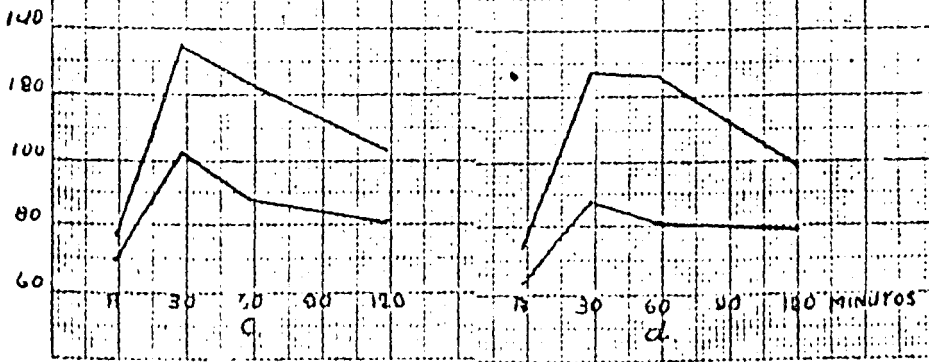


C.D.O. 8

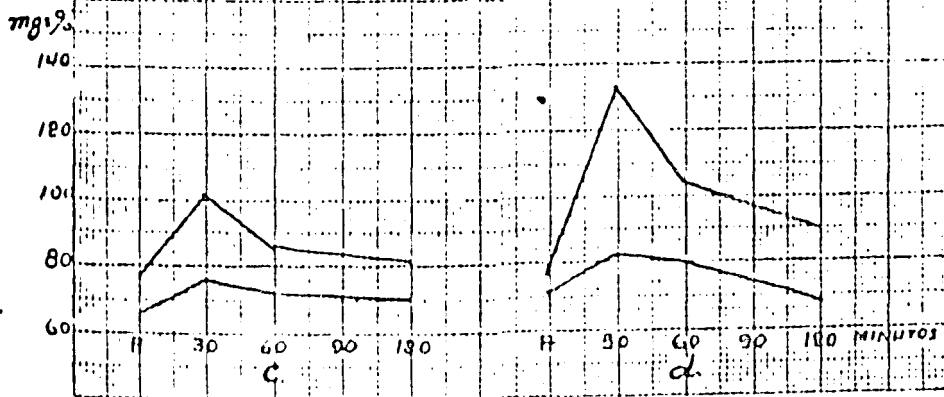
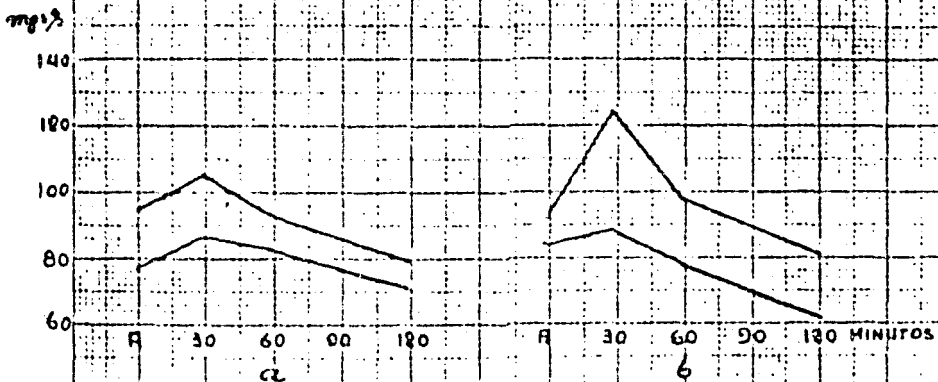
%



ugs. %



T.M. 9



A.R. 10.

W. %

150

130

110

90

70

50

0

30

60

90

120

0

30

60

90

120

MINUTOS

a

b

Mgs. %

150

130

110

90

70

50

0

30

60

90

120

0

30

60

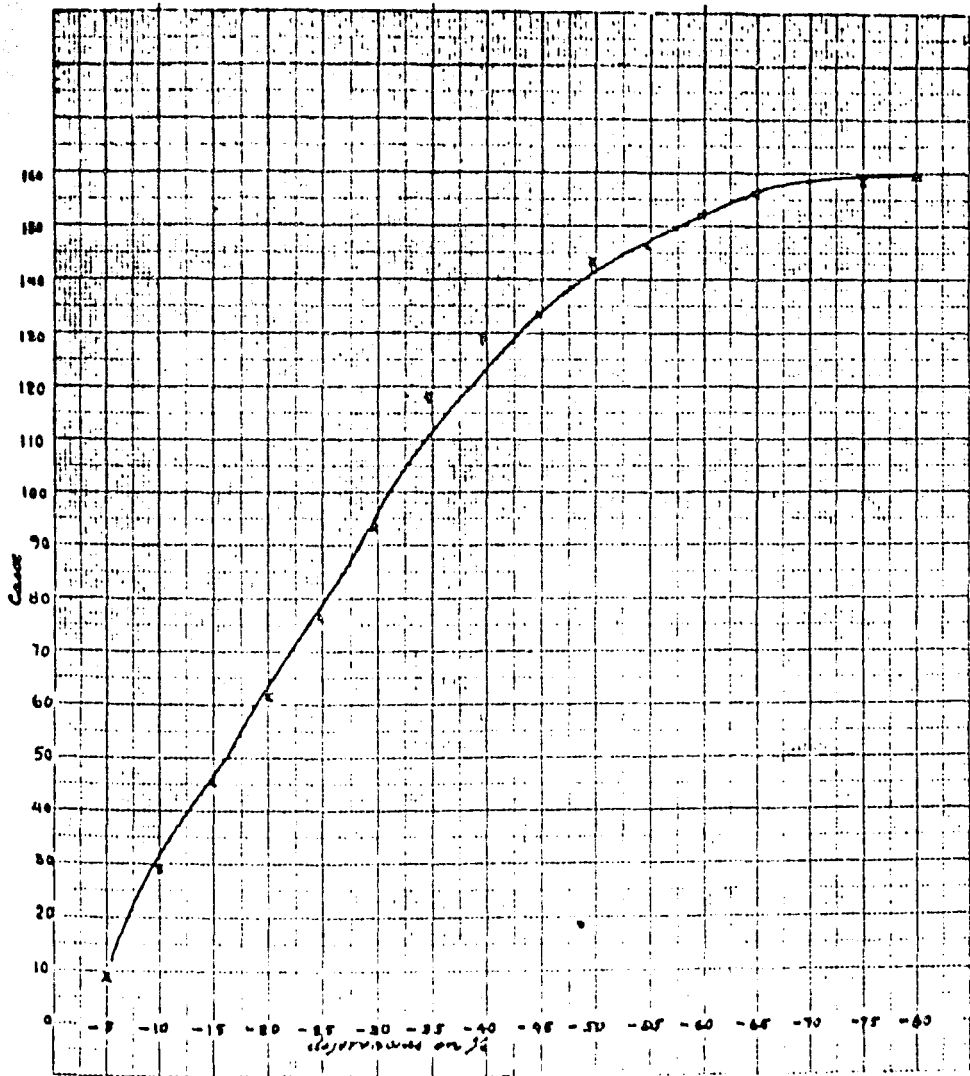
90

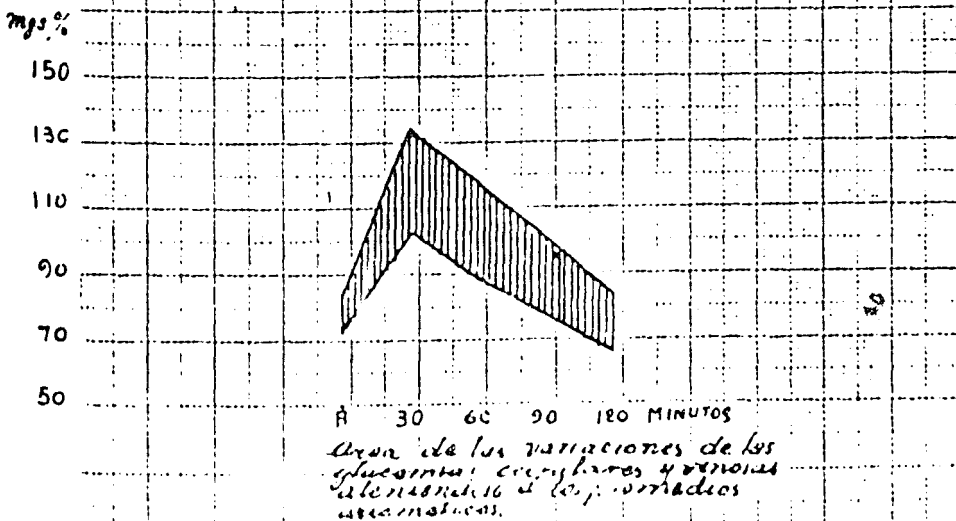
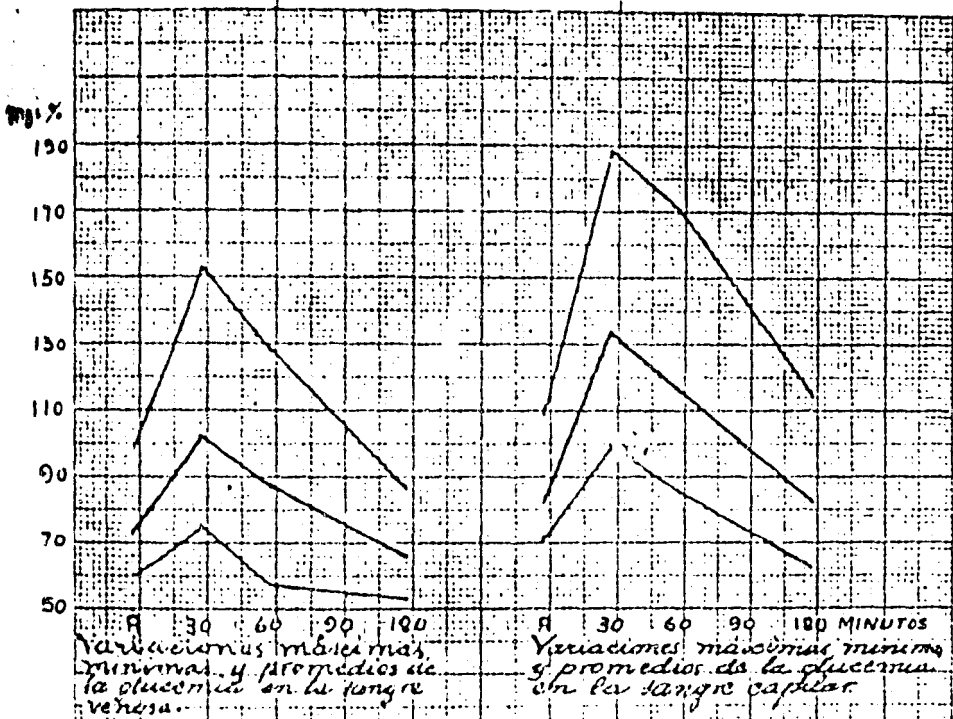
120

MINUTOS

c

d





Procedí luego al estudio de las correlaciones existentes entre las distintas muestras de g. a. g. v. siguiendo el método recomendado por Snedecor (30), ordenando primero todos los casos y rectificando los mismos con la exclusión del caso F.N. (5), por las razones antedichas.

FORMULAS EMPLEADAS:

$$\text{Desviación típica} = \sqrt{\frac{Sx^2}{n-1}}$$

S = suma

n = número de casos

x = desviación de la media aritmética.

Desviaciones típicas de las muestras

	c.	v.
1a. toma	14.0	12.3
2a. toma	25.0	25.5
3a. toma	33.8	30.9
4a. toma	17.0	14.3

Las desviaciones típicas excluyendo el caso F.N. (No. 5) fueron:

	c.	v.
1a. toma	8.4	8.7
2a. toma	22.5	22.5
3a. toma	21.7	18.6
4a. toma	11.0	8.2

$$\text{Índice de correlación} = r = \frac{Sxy}{\sqrt{(Sx^2) (Sy^2)}}$$

S = suma

x = desviación de la media aritmética para la g. v.

y = desviación de la media aritmética para la g. a.

Índices r de correlación:

1a. toma	0.84
2a. toma	0.86
3a. toma	0.90
4a. toma	0.84

Para 38° de libertad (40 observaciones) un valor del índice de correlación de 0.40 se considera altamente significativo.

Como vemos, los índices r de correlación obtenidos sobre mis datos, pueden considerarse buenos.

Quise averiguar si las correlaciones positivas que habianse puesto de manifiesto sobre la casuística general sufrían alguna modificación al excluir el caso anormal de F.N. (5). En efecto, al variar las medias cuadráticas de los casos restantes, (36 observaciones), bajaron los índices de correlación a los valores siguientes:

1a. toma	0.72
2a. toma	0.81
3a. toma	0.77
4a. toma	0.59

Estos índices de correlación continúan siendo buenos, aunque con la variante sobre los anteriores de ser algo más bajos, especialmente el correspondiente a la 4a. toma.

CAPITULO IV.—Discusión.

De lo que acabo de exponer se deducen algunos hechos que vamos a comentar en seguida:

En términos generales los valores de las glucemias que he obtenido son ligeramente más bajos que los publicados por otros autores que utilizaron distintos métodos, especialmente con los de Hansen (Mét. Hagedorn-Jensen) y los de Cavett y Seljeskong (Mét. Gibson).

Los que constituyen esta serie son muy cercanos a los de Somogyi (20), que deben considerarse como los más exactos de los publicados sobre esta cuestión.

Queda en pie la objeción que mantiene Somogyi contra el uso de los micrométodos, y un poco libres de ella los resultados que forman este trabajo, pues nuestras muestras de 0.5 c. c. de sangre y las diluciones al 1 x 20 pueden considerarse con un índice de exactitud muy estimable, mayor desde luego que la obtenida con los micrométodos corrientes.

Debo añadir que, en mis manos, el método yodométrico no dió un margen de exactitud mayor que el obtenido con el método de Somogyi-Nelson, de acuerdo con las prevenciones ya indicadas.

Paso a considerar los hechos positivos que pueden deducirse de mis observaciones.

En ningún caso diéronse diferencias de g. c. g. v. negativas.

Las mayores diferencias de g. c. g. v. coinciden con el período de hiperglucemia más alta, en lo que están de acuerdo todos los que han trabajado en este tema.

Esta fase hiperglucémica coincide en nuestra casuística en las tomas de los 30 minutos, aunque algunas veces se produjo más tarde de los 30 minutos de la ingestión del azúcar, (caso 1 d) (caso 5 a, b, c, d) (caso 4 d) (caso 6 c). En ningún caso más allá de los 60 minutos.

En ocasiones, la mayor diferencia de g. c. g. v. pudo coincidir con la zona de descenso de la curva:

(Caso 4 a y c) (caso 4 b y d) (caso 8 c y d) (caso 6 a, b y d) (caso 10 a y d).

También se evidencia del estudio de las curvas repetidas que la variabilidad de los valores *afecta más a la sangre capilar que a la venosa*, noción que habrá que tenerse presente cuando se trate de enjuiciar los resultados de pruebas, en los que la glucemia se investigue sobre sangre capilar o sobre sangre venosa.

Las curvas glucémicas manteniéndose siempre dentro de áreas relativamente limitadas para cada caso individual, sólo llaman la atención los casos No. 3 y 4 en las que se evidencia cierta labilidad glucémica, seguramente por tratarse de dos personas cuyo peso excede del normal y en los cuales la labilidad de regulación glucémica es bien conocida.

Con mayor frecuencia observamos que la diferencia g. c. g. v. es mayor al final de la prueba que al comienzo, coincidiendo precisamente con los valores más bajos de la curva y coincidiendo también con la cifra de correlación más baja de la serie.

En lo que se refiere al valor que sea prudente otorgar a los cálculos estadísticos, aplicados a mis resultados, acepto la afirmación de Puche (19), acerca de la necesidad de unificar métodos de trabajo y ordenarlos con criterio estadístico, siquiera no constituye, por ahora, otra cosa que una aspiración. Muchos problemas de investigación hubieran sido resueltos satisfactoriamente de haber existido unas normas de tipo internacional que permitieran manejar los resultados, de los que se ocupan de

problemas determinados, con este criterio más riguroso y uniforme.

En cuanto a la interpretación del valor que debe otorgarse a las diferencias de g. c. g. v. como expresión de la asimilación de glucosa por los tejidos extrahepáticos queda todavía en vigor la hipótesis de que está relacionada con las acciones fisiológicas de la insulina. Así Somogyi (20) admite en el primero de los trabajos de la serie, dedicada a este problema, como hechos bien establecidos los siguientes: (a) los animales privados de páncreas muestran diferencias g. a. g. v. extremadamente pequeñas (b), que la inyección de la insulina aumenta la diferencia g. a. g. v. También se ha referido al aumento de la diferencia de g. a. g. v. consecutivo a la hiperglucemia alimenticia a una mayor cantidad de insulina.

Wierzuchowsky (31), por caminos distintos, llega a la conclusión de que las aportaciones de glucosa determinantes de valores relativamente bajos de glucosa favorecen principalmente la oxidación y los elevados las funciones de almacenamiento y formación de ácido láctico.

Los resultados de mi casuística confirman la afirmación de Somogyi (21) cuando aparecen diferencias g. c. g. v. mayores que las post-absortivas en la hipoglucemia consecutiva a la hiperglucemia provocada, con la variante en el trabajo de Somogyi, que sitúa la mayor separación de los valores de g. a. g. v. 4 horas después de la prueba, pero nuestras gráficas y observaciones sólo alcanzan un tiempo más limitado (2 horas). Sin embargo, cuando se mantiene la hipoglucemia en la sangre arterial se produce una brusca caída en la capacidad de fijar glucosa por los tejidos, exceptuando el hígado y disminuye la g. c. g. v. por debajo de los valores en ayunas, sin alcanzar nunca, valores de g. c. g. v. negativos. De esta suerte los tejidos extrahepáticos contribuyen sustancialmente a la homeostasis del nivel de glucosa circulante en la sangre, al declinar su asimilación de glucosa durante la fase de hipoglucemia.

En apoyo de este modo de ver, recordaré aquí, los trabajos de Best, Hoet y Marks (32) cuando observan aumento del glucógeno muscular con la administración de glucosa e insulina y los de Debois (33) y (34) sobre la influencia insulínica en la recuperación del glucógeno muscular consumido durante la contracción.

Bouckaert y Duve (35) sostienen que gracias a la secreción endócrina pancreática, los tejidos periféricos de un animal consumen doble cantidad de glucosa que en ausencia de insulina y llegan a la conclusión de que el efecto esencial de la insulina, consiste en una aceleración de la reacción de fosforilación mediante la cual la glucosa penetra en los ciclos de las reacciones endocelulares. Con una glucemia normal la velocidad de esta reacción dobla bajo la acción de una dosis de insulina correspondiente al nivel de la secreción fisiológica del páncreas y puede ser cuadruplicada bajo dosis de insulina supramaximales. Los tejidos sobre los cuales se ejercita esta acción son principalmente los músculos estriados, probablemente también el músculo cardíaco y el tejido conjuntivo preadiposo. El destino final de la glucosa que desaparece de esta manera, varía de acuerdo con las condiciones bioquímicas del tejido en cuestión. De un modo general el organismo utiliza la glucosa, preferentemente a otras sustancias, para cubrir sus combustiones celulares y ello se manifiesta igualmente para la glucosa que desaparece bajo la acción de la insulina.

Los autores belgas sugieren que el mecanismo bioquímico de la insulina se ejerza sobre los sistemas enzimáticos del adenin-pirofosfórico y de la exokinasa.

Los recientes trabajos de Wick A. N., Drury D. R. Bancroft R. W. y McKay E. M. (36) utilizando glucosa con C_3^{14} confirman esta interpretación. En efecto, trabajando con conejos eviscerados, observan que la insulina actúa sobre los tejidos extrahepáticos aumentando considerablemente la combustión de glucosa. Esta influencia no se manifiesta de inmediato, pues transcurre cierto lapso en

la aparición del C_{14} en el CO_2 expirado en comparación con los animales controles.

Durante este período de tiempo importantes cantidades de glucosa desaparecen de la sangre y entran en la mecánica química del metabolismo. La glucosa suplementaria que desaparece bajo la acción de la insulina, y no es oxidada, se dispone como compuestos hidrosolubles y en menores cantidades como glucógeno y proteína en los tejidos.

Además del factor insulínico y de los factores metabólicos tisulares, hay que tener en cuenta en la determinación de las diferencias g. a. g. v. otros factores endócrinos antagónicos de la insulina; los cuales entran en juego regulador al perturbarse la glucemia. Marks (32), demostró hace algún tiempo que la glucogenesis en el músculo, favorecida por la insulina, es inhibida cuando inyecta extractos de hipófisis anterior.

Bennet L. L. y Roberts L. M. (38) muestran en animales eviscerados que el efecto hipoglucémico de la insulina es inhibido con la inyección simultánea de extracto ántero-hipofisiario.

Los trabajos de Houssay y sus colaboradores (39) han esclarecido los vínculos existentes entre la hipófisis y el páncreas: la intervención de la hormona diabetógena de la hipófisis en la glucogénesis de los músculos y del hígado, así como en los mecanismos generales de la regulación del metabolismo de los hidratos de carbono. El efecto de la hipófisis anterior en el metabolismo de los hidratos de Carbono sobre los tejidos, puede realizarse directamente, y por una acción adrenotrópica que se pondría de manifiesto por la entrada en acción de la corteza suprarrenal. En armonía con lo que venimos diciendo, están los resultados de Gershberg H. y Long C. N. H. (40), quienes observaron que en la hipoglucemia provocada por la insulina se produce un descenso del ac. ascórbico suprarrenal por aumento de la secreción de A. C. T. H. y de la actividad de las glándulas suprarrenales.

Sólo hemos querido apuntar con las citas precedentes la complejidad de las acciones que se ponen de manifiesto en la prueba de la hiperglucemia provocada por la ingestión de glucosa relacionadas con la glucogénesis. Como dice Somogyi en el último de sus trabajos (23) parece indudable que la diferencia de g. a. g. v. deba atribuirse de manera principal a un efecto insulínico sobre los mecanismos de asimilación periférica, pero habría que tomar en cuenta además, dos factores principales, uno de ellos la secuela antagonista a la insulina que provoca invariablemente la hipoglucemia y de otra parte las relaciones funcionales que se producen entre los niveles hiperglucémicos y las diferencias g. a. g. v.

El primero de estos dos factores no es susceptible de medición, pero es posible una corrección cuantitativa aproximada en lo que se refiere al factor hiperglucémico. Somogyi propone designar tal cantidad como "índice de asimilación relativo" y utilizarlo para la valoración de las diferencias arteriovenosas. Observa que la insulina mejora invariablemente la asimilación de glucosa por los tejidos cuando se inyecta al mismo tiempo que se administra la glucosa por vía oral.

Puche (41) realizó el estudio comparativo de la g. a. g. v. en un grupo de diabéticos, obteniendo resultados muy próximos a los de los sujetos normales. Este autor no pudo establecer ninguna relación cuantitativa entre las diferencias de g. a. g. v. y la intensidad de la perturbación diabética, lo que parece hallarse en contradicción con los datos aducidos con anterioridad, en favor de la intervención principal de la insulina en las diferencias de g. a. g. v. No obstante, es posible que en diabéticos y en animales pancreatomeclizados, independientemente de la perturbación general del metabolismo de los glúcidos, puedan conservar cierta eficiencia los otros mecanismos reguladores de la glucemia.

Las diferencias de g. a. g. v., están relacionadas con el metabolismo extrahepático de los hidratos de carbono y

su estudio sistemático puede ser de grande utilidad para determinar características metabólicas en sujetos normales y en distintos estados patológicos que pueden afectar el metabolismo.

La determinación de las diferencias de g. a. g. v., ha sido utilizada y seguirá sirviendo, como instrumento de investigación del metabolismo de los tejidos en distintas condiciones clínicas y experimentales.

CAPITULO V.—Resumen y Conclusiones.

1.—Para el estudio de las diferencias g. c. g. v., en individuos normales utilizamos el método de Somogyi-Nelson que a nuestro parecer ofrece suficiente garantía de exactitud.

Realizamos la prueba de la hiperglucemia provocada, según la técnica de Fanny e Isaacson modificada; la prueba fué repetida cada 8 días hasta 4 veces.

2.—Del estudio de los promedios resultó una diferencia del 26%; diferencia máxima 76% y diferencia mínima de 0.

3.—Las diferencias encontradas de g. c. g. v., más amplias coincidieron casi siempre con los valores más altos de la hiperglucemia provocada, concentraciones de azúcar que en la mayor parte de nuestra casuística se producen a los 30 minutos después de iniciar la prueba.

4.—Las curvas obtenidas de las glucemias venosas, siempre más bajas que las capilares, muestran una menor variabilidad sobre los valores en ayunas.

5.—Del estudio estadístico de nuestros datos observamos correlaciones positivas entre los valores de las "desviaciones típicas" entre ellos, manifestándose las diferencias máximas en la fase hiperglucémica.

CAPITULO VI.—Bibliografía.

- (1) MACLEOD J. J. R.: *Carbohydrate Metabolism and Insulin*. Toronto 1926.
- (2) CORI C. F. M.: *Carbohydrate Metabolism*. Physiological Reviews 1931. XI 144.
- (3) SOMKIN S. and LEVINE R.: *University of Chicago*. Press Chicago 1946.
- (4) SOMOGYI M.: *Reducing non Sugars and True Sugar in Human Blood*. Journal of Biological Chemistry 1927. LXXV 53.
- (5) SOMOGYI M.: *Distribution of Sugar in Normal Human Blood*. Journal of Biological Chemistry. 1928. LXXV 117.
- (6) SOMOGYI M.: *The Nature of Blood Sugar*. Journal of Biological Chemistry. I. 1928 LXXX 735. Journal of Biological Chemistry II. 1929.... LXXXIII 157.
- (7) HANSEN M. K.: *Investigations on the Blood Sugar in man Conditions of Oscillations Rate and Distribution*. Acta Medica Scandinavica. Supplementum IV. Copenhagen 1923.
- (8) HAZENHOLD R.: *Blood Sugar Studies with special regard to the threshold of Glycosuria in Diabetes Mellitus and Benign Chronic Glycosuria*. Acta Medica Scandinavica. Supplementum VIII. Christiania 1924.
- (9) HAGEBORN H. C.: *Studies Concerning the Regulation of the Blood Sugar*. Physiological papers dedicated to Prof. A. Krogh. Copenhagen 1926.
- (10) PETERS J. P. y V. S. AYKE D. D.: *Quantitative Clinical Chemistry*. Interpretations Vol. I. Second Edition Baltimore 1946.
- (11) CHAVEAU M.: *Nouvelles Recherches sur la Question Glycogénique*. Comptes R. Academie des Sciences 1856. XLII 1108.
- (12) BÄNG L.: *Blutzucker*. Jena 1913.
- (13) FOSTER G. I.: *Studies on Carbohydrate Metabolism*. Journal of Biological Chemistry 1923 LV 291.
- (14) FRIEDSON W., ROSENBAUM M. K., THALHEIMER E. J. y PETERS J. P.: *Cutaneous and Venous Blood Sugar Curves*. Journal of Biological Chemistry 1928 LXXX 291.
- (15) LUNDSGAARD C. y HOLBOLL S. A.: *Studies on Carbohydrate Metabolism*. Journal of Biological Chemistry 1925. LXXV 323-343.
- (16) GLASSBERG B. Y.: *The Arteriovenous Difference in Blood Sugar*. Content Archives of International Medicine 1930. XLVI 605.
- (17) CAVETT I. W. y SELJESKOG S. R.: *A Comparison of Sugar Tolerance Curves obtained on Venous and Capillary Blood*. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 1933. XVIII 1103.
- (18) PUICHÉ J.: *Investigaciones sobre el Metabolismo de los Glúcidos*. Revista Médica de Barcelona, 1934 XXI 350.

- (19) PUCHET J.: *II. Estudios sobre el Metabolismo de los Glúcidos. Curvas de sangre capilar y venosa.* Cronica Médica, Valencia 1934, XXXVIII, 325.
- (20) SOMOGYI M.: *Studies of Arteriovenous Differences in Blood Sugar. I. Effect of Alimentary Hyperglycemia on the Rate of Extrahepatic Glucose Assimilation.* Journal of Biological Chemistry 1948. CLXXIV 189.
- (21) SOMOGYI M.: *II. Effect of Hypoglycemia on the Rate of Extrahepatic Glucose Assimilation.* Journal of Biological Chemistry 1948. CLXXIV 597.
- (22) SOMOGYI M.: *Studies of Arteriovenous Differences in Blood Sugar. III. Effect of Insulin Administered in the Postabsorptive State.* Journal of Biological Chemistry 1949. CLXXIX 217.
- (23) SOMOGYI M.: *Studies of Arteriovenous Differences in Blood Sugar. IV. Effect of Intravenous Insulin and Simultaneous Glucose Feeding.* Journal of Biological Chemistry 1949. CLXXIX 1289.
- (24) FOLIN O. and MALMROS H. J.: *Blood Sugar and Fermentable Blood Sugar as Determined by Different Methods.* Journal of Biological Chemistry 1929. LXXXIII 121.
- (25) BENEDICT S. B.: *The Analysis of Whole Blood Sugar.* Journal of Biological Chemistry 1931. XCII 141.
- (26) SOMOGYI M.: *Detection and Quantitative Determination of Small amounts of Glucose Mixtures containing Maltose.* Journal of Biological Chemistry 1937. CXIX 741.
- (27) SOMOGYI M.: *Determination of Blood Sugar.* Journal of Biological Chemistry 1945. CLX 69.
- (28) NELSON N. A.: *Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose.* Journal of Biological Chemistry 1944. CLIII 375.
- (29) KRAMER H. and STEINER A.: *Notes on the Hagedorn-Jansen Method for the Determination of Blood Sugar.* The Biochemical Journal 1931, XXV 161.
- (30) SNEDECOR G. W.: *Statistical Methods applied to Experiments on Agriculture and Biology.* Ames, Iowa 1940.
- (31) WIERZUCHOWSKI M.: *Oxidation of Glucose as Function of its Supply.* Journal of Physiology 1937, XC 440.
- (32) BEST, HOET et MARKS. *The fate of Sugar Disappearing under the Action of Insuline.* Proc. of Royal Soc. B. C. 1926 XXXII 54 (Citado por Debois).
- (33) DEBOIS G.: *Glucopépie Musculaire après Injection de Glucose. Rôle des nerfs vagues.* Archives Internationales de Pharmacodynamie et Thérapie. 1941. XLI 129.
- (34) DEBOIS G.: *La glucopépie Musculaire après Travail et ses Rapports avec l'innervation du Pancréas.* 1941, XLI 66.
- (35) BOUCKAERT J. P. et DE DUVE CHR.: *L'action Extrahepatique de l'insuline.* Réunion de l'Association des Physiologistes de langue française. C. B. XV. Toulouse Avril 1947.
- (36) WICK A. N., DUCRY D. R., BANCROFT R. W. y MCKAY E. M.: *Action of Insuline on the Extrahepatic Tissues.* Journal of Biological Chemistry 1951. CLXXX 241.
- (37) MARKS H. P.: *Metabolism of the Dog made Diabetic by Anterior Pituitary Injection.* Journal of Physiology LXXXVII 1936. (Citado por Somogyi).

- (38) BENNET L. I. y ROBERTS L. M.: American Journal of Physiology 1946. CXLVI 502 (Citado por Somogyi).
- (39) HOUSSAY B. A., FODIA V. G., SMYTH F. S., RIETTI C. T. and HOUSSAY A. B.: *The Hypophysis and Secretion of Insuline*. Journal Experimental Medicine 1942. LXXV 547.
- (40) GERSHBERG H. y LONG C. N. H.: Clinical Endocrinology 1948. VIII 587.
- (41) PUCHE J. *Estudios sobre el Metabolismo de los Glúcidos. III. Las curvas de glucemia capilar venosa en sujetos diabéticos*. Crónica Médica de Valencia 1934. XXXVIII 657.