

## Valor de la pH-metria en la evaluación de las lesiones texturales secundarias a procesos isquémicos agudos

L. HERRERO MATEO y R. VARA THORBECK

Cátedra de Patología Quirúrgica II (Prof. R. Vara Thorbeck)  
Facultad de Medicina  
Granada (España)

### INTRODUCCION

La isquemia aguda de las extremidades progresa, por lo general, con rapidez, desde un estadio inicial, a veces dramático, rico en síntomas y signos pero totalmente reversible, a un estado de gangrena en la que los tejidos, sometidos al padecer isquémico, adquieren profundas lesiones estructurales totalmente irreversibles.

Por ello, toda actitud terapéutica ha de condicionarse al estado biológico de los tejidos afectados por el proceso arterio-oclusivo agudo. **Hallman, Billig, Beal y Cooley** (8) señalan a este respecto que cualquiera de los procedimientos propuestos para el tratamiento de la enfermedad que nos ocupa es idóneo, siempre y cuando se instaure precozmente, es decir antes de que aparezcan lesiones irreversibles de la extremidad.

El problema radica precisamente en valorar la viabilidad de los tejidos isquémicos. Múltiples han sido los métodos propuestos: desde los que se basan en la evolución de diversos parámetros clínicos, hasta los que valoran exclusivamente la cronología del proceso, pasando por el empleo de técnicas exploratorias más o menos precisas y objetivas (arteriografía, sonografía).

Si consideramos que la hipoxia es la llave de los acontecimientos que la isquemia produce a nivel tisular, por cuanto origina un metabolismo anaerobio con la subsiguiente producción y acúmulo textural de radicales ácidos, habremos de convenir en que la utilización de métodos que pongan de manifiesto estos cambios metabólicos nos proporcionará una visión más dinámica, objetiva y fisiopatológica del devenir de los tejidos afectados por el accidente arterio-oclusivo.

Basados en esta hipótesis, numerosos autores han intentado evaluar el su-

frimiento hístico provocado por la isquemia, mediante la determinación analítica, regional o general de diversos sustratos procedentes de la degradación glucolítica anaerobia. **Dery** y colaboradores (1965) (4), **Hild** y colaboradores (1966) (10), estudian la tasa de ácido láctico; **Manzoli** y **Penneys** (1961) (17), **Penneys** (1967) (18-19), **Selmeci** y colaboradores (1970) (23), **Loegering** y colaboradores (1971) (15), la actividad enzimática de la láctico-deshidrogenasa (LDH) en la sangre de pacientes con isquemia aguda de las extremidades.

Basados en el hecho de que el ácido láctico se acumula en los tejidos isquémicos, se les ocurre a **Schade**, **Neukirch** y **Halpert** en 1921 (22) valorar por vez primera el pH tisular mediante métodos electrométricos. Este proceder fue perfeccionado por **Voegelin** y colaboradores en 1935 (26), utilizándose de forma experimental por **Maison** (1938) (16), **Domchowski** y **Couch** (1966) (5-2) y **Lemieux** (1969) (13). Se aplica en la clínica humana por vez primera por **Glinz** en 1970 (7). Nosotros (9) venimos empleando la pH-metría textural para valorar la viabilidad de los tejidos isquémicos desde 1971, con satisfactorios resultados.

En el presente trabajo pretendemos analizar mediante un estudio experimental y clínico la significación de la pH-metría textural en la valoración del estado biológico de los tejidos sometidos a una hipoxia ocasionada por procesos arterio-occlusivos de los miembros.

## MATERIAL Y METODO

**I. Estudio experimental.** Se utilizaron 8 perros bgastardos de la misma edad y peso. Anestesiados con pentobarbital sódico (35 mg/Kg peso), tubo endotraqueal y respiración controlada, procedimos a la determinación del pH-textural así como de la lactacidemia y actividad enzimática de la deshidrogenasa láctica (LDH) en sangre obtenida de la vena femoral de una de sus extremidades.

Provocada una isquemia aguda en el miembro inferior elegido, valoramos durante cinco horas las modificaciones del pH-textural, lactacidemia y actividad de LDH.

Para conseguir la isquemia se colocó un torniquete elástico en la raíz del muslo. Con el fin de evitar que el tortor estenosara la vena femoral y obtuviéramos muestras de sangre estancada, procedimos a liberarla en la región inguino-crural pasando el compresor elástico, que circundaba la extremidad, por el espacio subcutáneo.

El pH textural se determinó mediante un sistema doble de electrodos (el medidor, de vidrio, y el de referencia, de kalomelano en solución saturada de cloruro potásico) de W. Möller, conectado a un pH-metro Beckman. El electrodo medidor fue introducido percutáneamente a nivel de los músculos de la pierna (gastrocnemio, flexor superficial de los dedos). El electrodo de referencia se aplicó, a través de una pequeña incisión, en el tejido celular, con objeto de evitar la interferencia de los potenciales cutáneos (26).

La lactacidemia se valoró con la técnica de Hohorst y Bergmeyer (11) en la sangre obtenida por punción directa de la vena femoral, al igual que la actividad de la LDH, en cuya determinación empleamos el método de Cabaud y Wroblewski (1).

**II. Estudio clínico.** Fue realizado en 24 pacientes que se dividen en dos grupos.

Grupo I (control): Consta de 12 enfermos de edades comprendidas entre 20 y 40 años que no padecían afección vascular alguna.

Grupo II (problema): Constituido por 12 pacientes que presentaban un cuadro arterio-oclusivo agudo en sus extremidades inferiores de etiología y patocrónia diferente.

En ambos grupos la pH-metría textural se valoró tanto a nivel de los músculos del muslo (abductor mayor y vasto externo) como en los de la pierna (gemelos y sóleo).

El electrodo de referencia se colocó sobre la piel de la extremidad, perfectamente limpia y humedecida con suero fisiológico.

La lactacidemia se determinó en sangre obtenida por punción percutánea de la vena femoral del miembro afecto, utilizando para ello el método de Hohorst y Bergmeyer (11).

Todas las exploraciones, tanto electrométricas como analíticas, fueron efectuadas bajo anestesia general.

**III. Tratamiento estadístico.** Para la contrastación de hipótesis se aplicó la «t» de Student.

Nos situamos en un estado «A» en el que las características de los individuos presentan una distribución normal, con media y varianza desconocida. Lo que queremos comprobar es que tras la creación de una situación experimental o clínica se obtiene una modificación homogénea y significativa en los parámetros valorados.

Para ello realizamos el siguiente «test»:

a) Como las poblaciones son normales y la varianza se desconoce, empleamos una «t» de Student.

b) La hipótesis que se contrasta es que el estado «A» y el posterior a la situación experimental o clínica son semejantes.

Para ello utilizamos el siguiente estadístico:

$$t = \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{\sqrt{\frac{n_x \cdot S_x^2 + n_y \cdot S_y^2}{n_x + n_y}}} \sqrt{\frac{n_x n_y (n_x + n_y - 2)}{(n_x + n_y)}}$$

Tras aplicar en esta fórmula nuestros valores obtendremos una «t» real que contrastaremos con la «t» teórica, que para n-1 grados de libertad nos proporcionan las tablas de Fischer (6).

Si la «t» real es mayor que la «t» teórica rechazamos la hipótesis con la probabilidad correspondiente. Por el contrario, si la «t» real es menor que la «t» teórica, aceptamos dicha hipótesis.

En nuestro caso, rechazar la hipótesis equivale a decir que la situación experimental o clínica influyó, tal y como queremos demostrar, en el comportamiento de los individuos.

## RESULTADOS

### I. Estudio experimental (Cuadro I)

#### 1.º pH-metría textural (Fig. 1)

El pH-textural basal fue de  $7.42 \pm 0.05$ .

La intervención isquemiante produce precozmente una acidosis tisular, ya que a las dos horas de iniciarse la compresión de la extremidad registramos pH-texturales de  $6.87 \pm 0.09$  unidades ( $p < 0.001$ ).

Al final de la experiencia, transcurridas 5 horas de la isquemia, el pH tisular descendió a  $6.2 \pm 0.04$  unidades ( $p < 0.001$ ).

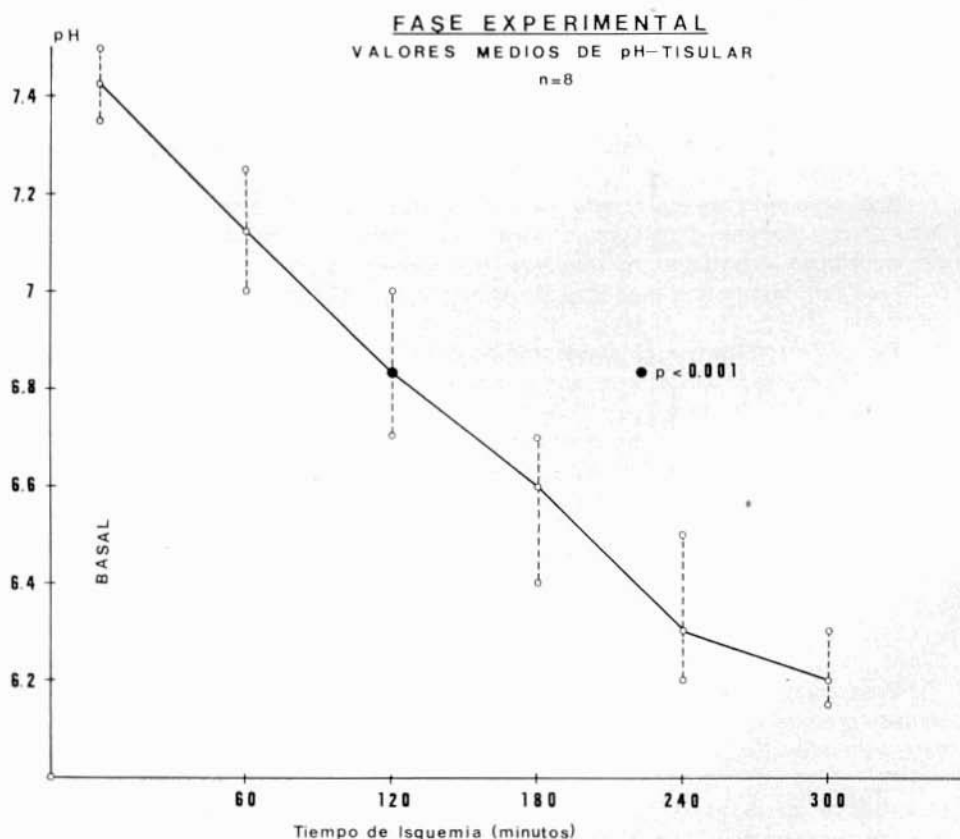


Fig. 1: Estudio experimental. Valores medios del pH tisular. La variación sufrida por este parámetro es altamente significativa a los 120 minutos de comenzada la prueba ( $p < 0.001$ ).

CUADRO I

ISQUEMIA AGUDA CON APLICACION DE TORNIQUETE								
Determinaciones	Basal	COLOCACION DEL TORNIQUETE					60 minutos	120 minutos
		180 minutos	240 minutos	300 minutos				
pH	$\bar{X} = 7.42$ $S = 0.05$	$\bar{X} = 6.6$ $S = 0.1$	$\bar{X} = 6.36$ $S = 0.086$	$\bar{X} = 6.206$ $S = 0.040$				
LACTICO mg. %	$\bar{X} = 13.56$ $S = 2.99$	$\bar{X} = 48$ $S = 8.59$	$\bar{X} = 58.31$ $S = 7.85$	$\bar{X} = 66.75$ $S = 5.54$				
L.D.H. V.W.	$\bar{X} = 51$ $S = 12.61$	$\bar{X} = 220$ $S = 34.59$	$\bar{X} = 284$ $S = 29.55$	$\bar{X} = 323$ $S = 31.52$				

Estudio experimental. Resultados

**2.º Ácido láctico (Fig. 2)**

La lactacidemia basal fue de 13.56 mg %. La isquemia determinó un precoz y significativo ascenso de este parámetro, alcanzando a los 120 minutos de iniciarse la prueba valores de  $36.38 \text{ mg \%} \pm 9.49$  ( $p < 0.001$ ). Tres horas más tarde la lactacidemia se elevaba a  $66.75 \pm 5.54 \text{ mg \%}$  ( $p < 0.001$ ).

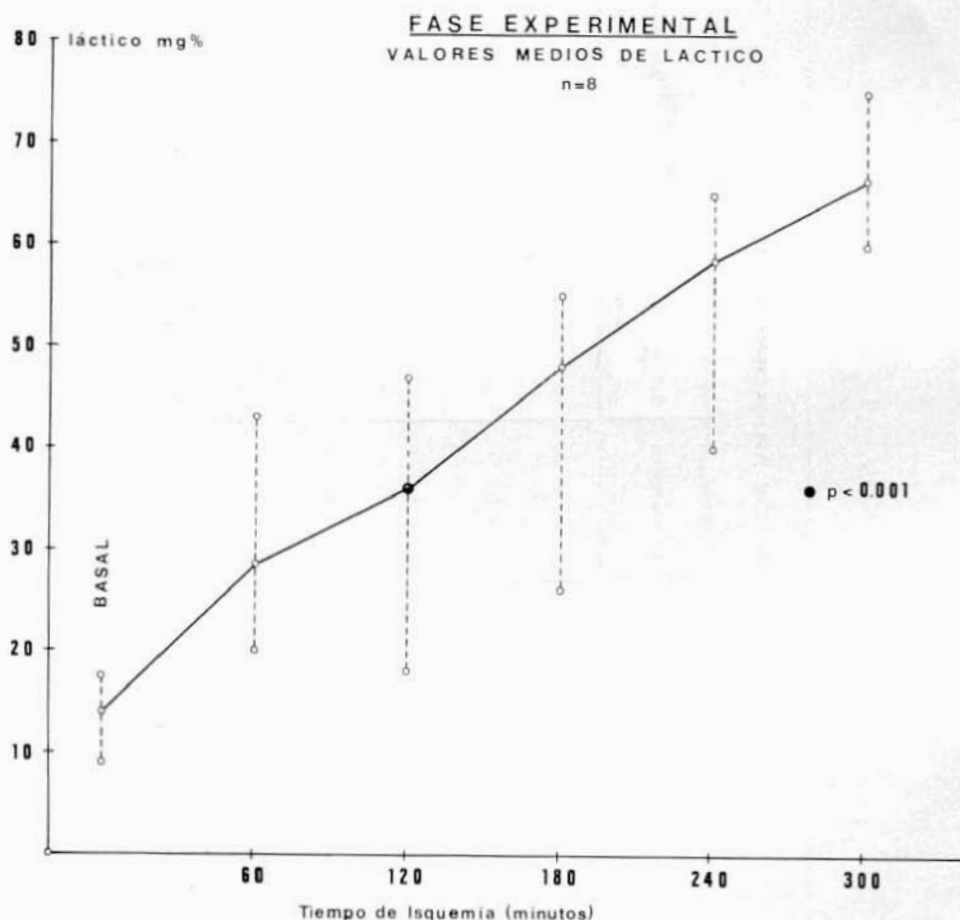


Fig. 2: Estudio experimental. Valores medios de ácido láctico. El ascenso de la tasa de lactatos es altamente significativa a los 120 minutos de comenzada la prueba ( $p < 0.001$ ).

### 3.º Deshidrogenasa láctica (LDH) (Fig. 3)

Las modificaciones de la actividad enzimática de la LDH fueron semejantes y en cierto modo paralelas a las del ácido láctico, pues se produjo, al igual que en aquél, un incremento precoz y significativo de sus valores. En efecto, si en condiciones basales registramos una actividad enzimática de 51.U.W. ( $\pm 12.61$ ), a los 120 minutos de haber provocado la isquemia obtuvimos valores de 132.U.W. ( $\pm 38.72$ ) ( $p < 0.001$ ), alcanzándose 3 horas más tarde 323.U.W. ( $\pm 31.52$ ) ( $p < 0.001$ ).

## II. Estudio clínico (Cuadro II)

### Grupo I (Control)

1.º pH-metría textural: los valores medios obtenidos fueron de 7.54 ( $\pm 0.02$ ) siendo el rango de 7.58 — 7.5 U.pH.

2.º Ácido láctico: Los valores medios de ácido láctico alcanzaron 10.47 mg/% ( $\pm 1.26$ ) siendo el rango de 12 — 8 mg/%.

CUADRO II

FASE CLINICA				
Grupo	n	pH		Láctico mg. %
		muslo	pierna	
I Control	12	$\bar{X} = 7.54$ $r = 7.58 - 7.5$ $S = 0.02$		$\bar{X} = 10.47$ $r = 12 - 8$ $S = 1.26$
II Patológico Serie A - 1 tiempo evolución < 20 h.	5	$\bar{X} = 7.24$ $r = 7.4 - 7$ $S = 0.21$	$\bar{X} = 7.04$ $r = 7.3 - 6.7$ $S = 0.26$	$\bar{X} = 12.21$ $r = 14 - 10$ $S = 1.48$
II Patológico Serie A - 2 tiempo evolución > 24 h.	7	$\bar{X} = 7.01$ $r = 7.3 - 6.7$ $S = 0.248$	$\bar{X} = 6.6$ $r = 6.9 - 6.2$ $S = 0.27$	$\bar{X} = 29.38$ $r = 55.7 - 20$ $S = 15.9$

### Estudio clínico. Resultados

### Grupo II (Patológico): (Cuadros II y III)

Basándose en el tiempo de evolución transcurrido entre el accidente oclusivo y la determinación de los parámetros, fue subdividido en dos series:

Serie A-1: Constituido por 5 pacientes en los que transcurrieron menos de

20 horas entre la obstrucción arterial y el momento de efectuar la determinación analítica.

Serie A-2: Consta de 7 enfermos en los que desde la instauración de la isquemia aguda hasta la realización de nuestro estudio transcurrieron 24 ó más horas.

1.º pH-metría textural:

Serie A-1: A nivel de la musculatura del muslo obtuvimos un pH medio de 7.24 ( $\pm 0.21$ ) unidades.

El pH de los músculos de la pierna fue más bajo, correspondiendo la media a 7.04 ( $\pm 0.26$ ) unidades.

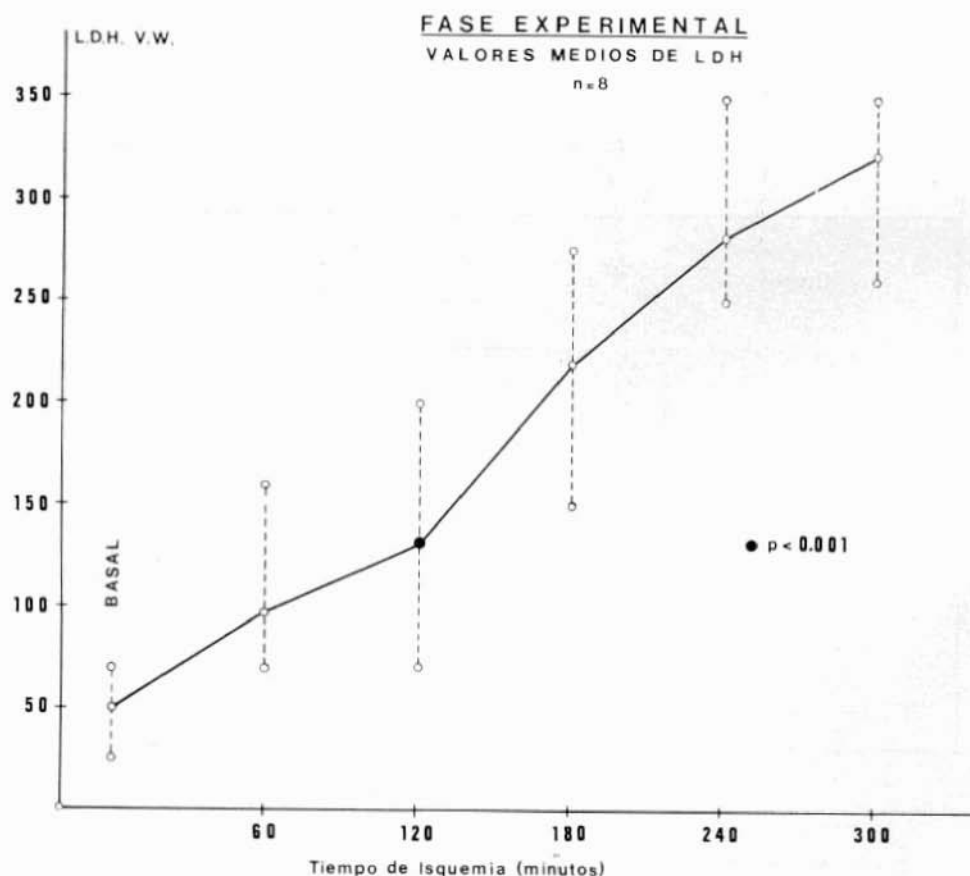


Fig. 3: Estudio experimental. Valores medios de L.D.H. La elevación de la actividad enzimática es manifiesta, siendo la modificación de este parámetro altamente significativa tras 120 minutos de isquemia ( $p < 0.001$ ).



CUADRO III

FASE CLINICA GRUPO II				
N.º del Caso Nivel de la oclusión	pH-muslo	pH-pierna	Láctico mg. %	Tiempo evolución < 20 horas
Caso I Fem. Superficial	7.4	7	14	
Caso II Fem. Superficial	7	6.9	12.04	
Caso III Fem. Superficial	7.4	7.3	10	
Caso IV Fem. Superficial	7.4	7.3	12	
Caso V Ilíaca Primitiva	7	6.7	13.05	Tiempo evolución > 24 horas
Caso VI Fem. Superficial	7.3	6.3	20.7	
Caso VII F. Superficial Hunter	7.3	6.2	55.7	
Caso VIII Ilíaca externa	7.1	6.9	20	
Caso IX Ilíaca externa	7.1	6.9	19.76	
Caso X Ilíaca Primitiva	6.7	6.5	49.5	
Caso XI Ilíaca Primitiva	6.8	6.7	20	
Caso XII Ilíaca Primitiva	6.8	6.7	20	

**Estudio clínico. Grupo II. Resultados**

Los enfermos fueron agrupados, según el tiempo de evolución del proceso, en dos series:

Serie A-1: Tiempo de evolución inferior a 20 horas

Serie A-2: Tiempo de evolución superior a 24 horas

En ambos casos el descenso del pH, en comparación a los valores del grupo control, fue altamente significativo ( $p < 0.001$ ).

Serie A-2: El valor medio del pH en los músculos del muslo fue de 7.01 ( $\pm 0.248$ ) unidades.

Por lo que respecta al pH distal, las cifras alcanzadas fueron muy bajas, siendo la media de 6.6 ( $\pm 0.27$ ) unidades.

En ambos casos la comparación con el grupo control puso de manifiesto una caída del pH altamente significativa ( $p < 0.001$ ).

## 2.º Lactacidemia:

Por lo que a este parámetro respecta, su evaluación fue manifiesta en todos los enfermos pertenecientes a la serie A-2; encontramos valores medios de 29.38 ( $\pm 15.9$ ) mg/%.

La diferencia con respecto al grupo control pudo considerarse como altamente significativa.

Por el contrario, en la serie A-1, encontramos incrementos muy discretos en la tasa de lactatos, apareciendo una lactacidemia media de 12.21 ( $\pm 1.489$ ) miligramos por ciento.

## DISCUSION

Ya comentamos al iniciar el trabajo la importancia que para el cirujano tiene la posibilidad de informarse, de forma rápida, sencilla y fidedigna, del estado de los tejidos de una extremidad que sufre un proceso arterio-oclusivo agudo.

La búsqueda de métodos capaces de valorar la repercusión que sobre los mismos ejerce la isquemia hizo cifrar nuestros esfuerzos en aquellas técnicas aptas para la exploración del grado de acidosis textural inducida por la anaerobiosis, de la que es responsable la arteriopatía oclusiva.

1.º **pH-metría textural:** El método electrométrico ha demostrado ser eficaz, poniendo de manifiesto, tanto en la fase experimental como clínica, variaciones ácidas del pH de los tejidos, que guardan estrecha relación con la intensidad y el tiempo de evolución de la isquemia.

El precoz y marcado descenso del pH en la fase experimental viene justificado por la gran intensidad de la isquemia y concuerda plenamente con los hallazgos de **Dery** (4) y **Solonen** (24) que observaron, después de la colocación de un torniquete, descensos del pH y disminución del bicarbonato en la sangre venosa de la extremidad.

En el estudio clínico, los valores más bajos del pH correspondieron a aquellos enfermos que acudieron al Servicio transcurridos más de 24 horas desde la instauración del proceso arterio-oclusivo. En todos ellos, los pH-texturales distales se encontraron por debajo de 7 unidades, lo que debe considerarse, en opinión de **Glinz** (7), como expresivo de una marcada acidosis.

En muslo, registramos valores que oscilaron entre 7.3 y 6.7 U., correspondiendo las cifras más bajas a aquellos pacientes con obstrucciones arteriales altas: la ilíaca primitiva (casos, X, XI y XII).

En los enfermos con un tiempo de evolución inferior a las 20 horas, las variaciones del pH fueron menos marcadas, observándose un pH inferior a 7.4 sola-

mente en dos de los casos, únicos en los que el pH distal descendía por debajo de 7 U.

Hay que considerar que un pH por debajo de 7.3 — 7.2 es indicativo de una marcada acidosis, pero en contra a la opinión de **Glinz** (7) no creemos que dicha acidosis sea irreversible, pues ya hemos visto en el estudio experimental y en algunos clínicos la precocidad con que se instaura. Por ello, pensamos que los datos obtenidos por la pH-metría textural no pueden ser valorados de forma aislada sino en relación al tiempo de evolución del proceso isquémico.

2.º **Lactacidemia:** Los resultados obtenidos en el estudio de este parámetro concuerdan igualmente con los hallazgos de **Dery** (4) y **Solonen** (24), quienes encuentran una constante elevación en la tasa de lactatos después de interrumpir, mediante torniqueta, la circulación arterial de los miembros.

En la fase experimental la evolución de la lactacidemia con respecto al pH textural mostró una relación inversa, detectándose incrementos de la tasa de lactatos conforme descendía el pH.

En el estudio clínico y por lo que se refiere a la serie A-1, la lactacidemia no sufrió grandes modificaciones. Sin embargo, cuando esta determinación se realiza en pacientes cuyo padecer isquémico agudo rebasa las 24 horas, la tasa de ácido láctico en sangre venosa aumenta extraordinariamente, hecho que coincide con las observaciones realizadas por **Glinz** (7).

3.º **Actividad de la LDH:** Está demostrado que una intensa lesión textural produce una salida manifiesta de enzimas intracelulares a la sangre circulante (**La Due, Wroblewski y Karmen** 1954 [12]; **Rudolph, Duttin y Schafer** 1955 [21]. Igualmente la isquemia de diversos órganos, como el hígado (**De Duve y Beaufay** 1959 [3], corazón [**Wroblewski y La Due** 1955 [27]]). etc., origina la liberación de las enzimas intracelulares.

Si bien este hecho es aceptado por todos los autores, los mecanismos por los que se produce el aumento de la actividad enzimática en los líquidos extracelulares no es bien conocido.

En nuestro estudio experimental hemos demostrado que la isquemia aguda por torniquete en las extremidades inferiores de los perros produce un notable incremento de la actividad de la de hidrogenasa láctica sérica.

El aumento de la actividad de LDH puede referirse en primer término a la hipoxia, que originaría:

a) Una alteración de la función respiratoria celular, desencadenando en un intento de supervivencia un retorno al mecanismo metabólico celular más elemental: la glicolisis anaerobia, merced a la cual el ácido pirúvico se transforma en láctico por acción de la LDH.

b) Una perturbación de la permeabilidad de la membrana celular con aumento de la misma y migración, por un proceso de permeación, al espacio extracelular de los enzimas citoplasmáticos.

De acuerdo con esas teorías y coincidiendo con los hallazgos de numerosos autores (17-18-19), hemos puesto de manifiesto precoces aumentos de la LDH en la sangre venosa de las extremidades isquemiadas experimentalmente, pero tales

elevaciones las consideramos como moderadas e indicadoras exclusivamente de un sufrimiento hístico y no de una lesión celular irreversible.

La ruptura celular entrañaría un incremento más notable de la actividad enzimática, como hemos demostrado en trabajos anteriores, debido a que al destruirse la célula se liberan todos sus enzimas, pasando al torrente circulatorio (14-17-20-25).

## CONCLUSIONES

### 1.º Con respecto a la pH-metría textural:

I. El método ha demostrado ser eficaz, pues permite detectar en los procesos arterio-oclusivos agudos variaciones precoces del equilibrio ácido-base a nivel tisular.

II. El pH textural normal oscila entre 7.4 - 7.5.

III. El pH límite, por debajo del cual hemos de considerar la existencia de una acidosis local, es de 7.3.

IV. El descenso del pH se encuentra en relación directa a la intensidad y gravedad de la isquemia, guardando una relación evidente con el nivel en el que asienta la oclusión.

V. La reversibilidad de las lesiones textuales está no sólo relacionada con el pH tisular sino también con el tiempo de evolución de la isquemia.

### 2.º Con respecto a la lactacidemia

I. En los procesos isquemiantes agudos observamos una elevación constante de la tasa de lactatos.

II. Al incremento de la lactacidemia corresponde un progresivo descenso del pH.

III. Los aumentos de la tasa de lactato son directamente proporcionales al tiempo de evolución del proceso isquemiente.

### 3.º Con respecto a la actividad de la deshidrogenasa láctica (LDH)

I. Los procesos arterio-clusivos agudos se acompañan de una elevación precoz de la actividad de la LDH.

II. Aumentos moderados de la actividad de esta enzima son indicativos de un sufrimiento celular hipóxico.

III. Incrementos notables en la actividad enzimática pueden considerarse expresivos de una destrucción celular lo que implicaría una lesión tisular irreversible.

## RESUMEN

Se ha efectuado un trabajo experimental (8 perros) y clínico (24 pacientes) con objeto de evaluar la significación de diferentes parámetros electrométricos y bioquímicos que permitan valorar el estado metabólico de los tejidos sometidos a un padecer arteriooclusivo agudo.

Se demuestra que la pH-metría textural junto con la lactacidemia y la determinación de la actividad enzimática de la deshidrogenasa láctica permiten detectar con fidelidad la intensidad del sufrimiento celular de los tejidos afectados por el proceso isquémico agudo.

## SUMMARY

In order to evaluate the correlation of the metabolic changes of tissues under acute ischemia and the electrometric and biochemical data an experimental and clinical work has been carried out in 8 dogs and 24 patients. It was demonstrated that tissular pH lactacidemia and LDH activity provided good information about the intensity of cellular damage in acute ischemia.

## BIBLIOGRAFIA

1. Cabaud, P. G.; Wroblewski, F.: Colorimetric measurement of lactic dehydrogenase activity of body fluids. «Am. J. Clin. Path.», 30:234, 1958.
2. Couch, N. P.; Maginn, R. R.; Middleton, M. K.; Appleton, D. R.; Domchowski, J. R.: Effects of ischemic interval and temperature on renal surface hydrogen ion concentration. «Surg. Gynec. Obst.», 125:521, 1967.
3. De Duve, C.; Beaufay, H.: Tissue fractionation studies. 10. Influence of ischemia on the state of some enzymes in rat liver. «Biochem. J.», 73:610, 1959.
4. Dery, R.; Pelletier, J.; Jacques, A.; Clavet, M.; Houde, J. J.: Metabolic changes induced in the limb during tourniquet ischemia. «Canada Anaest. Soc. J.», 12:367, 1965.
5. Domchowski, J. R.; Couch, N. P.: Electrometric surface pH of the ischemic kidney and the effect of hypothermia. «J. S. Res.», 6:45, 1966.
6. Fischer, R. A.; Yates, F.: «Statistical tables for agricultural, biological and medical research». Oliver and Boyd, Edimburg, 1953.
7. Glinz, W.: pH-Messung in der Muskulatur. Ein neues Hilfsmittel zur Wahl der Amputationshöhe bei chronischen arteriellen Durchblutungsstörungen. «Langenbeck, Arch. Clin. Chir.», 326:306, 1970.
8. Hallman, G. L.; Billig, D. M.; Beall, A. C., Jr.; Cooley, D. A.: Consideraciones quirúrgicas sobre la embolia arterial. «Clin. Quir. Norteamérica», 4:1013, 1966.
9. Herrero Mateo, L.: Valor de la pH-metría textural en el diagnóstico precoz de las lesiones pre-gangrenosas. «Tesis doctoral». Granada, 1974.
10. Hild, R.; Brech, Th.; Zolg, H.: Das Lactat/Piruvat System als indicator des Rubestoffwechsels. «Klin. Wschr.», 44:44, 1966.
11. Hohorst, H. J.; Bergmeyer, H. U.: Methodem der enzymatischen Analyse. «Verlag. Chemie Weisheim. S.», 266:1. Aufl., 1962.
12. La Due, J. S.; Wroblewski, F.; Karmen, A.: Serum glutamic transaminase activity in human acute transmural myocardial infarction. «Science N. Y.», 120:497, 1954.
13. Lemieux, M. D.; Smith, R. N.; Couch, N. P.; Macey, A. M.: Surface pH and redox potential of skeletal muscle in graded hemorrhage. «Surgery», 65:467, 1969.
14. Lewis, G. P.: Intracellular enzymes in local lymph as a measure of cellular injury. «J. Physiol.», 191:591, 1967.
15. Loegering, D. J.; Critz, J. B.: Effect of hypoxia and muscular activity on plasma enzyme levels in dogs. «Amer. J. Physiol.», 220:100, 1971.
16. Maison, G. L.; Orth, O. S.; Lemmer, K. E.: pH-changes in rabbit and human striated muscle after contraction. «Amer. J. Physiol.», 121:311, 1938.
17. Manzoli, V.; Penneys, R.: Serum enzyme activities of Glutamic Oxalacetic, Lactic-dehydrogenase and Isocitric-dehydrogenase, following embolization of dog limb. «Am. J. Cardiol.», 8:829, 1961.
18. Penneys, R.: Serum Lactic dehydrogenase Isozymes with embolization of the dog limb and related experiments and the microelectrophoresis method of Wieme. «Vas. Dis.», 4:362, 1967.
19. Penneys, R.: Serum Lactic dehydrogenase (LDH) Isozymes with ischemic damage of skeletal muscle of the human limb. «Angiology», 18:678, 1967.
20. Piulachs, P.; Balis, R.: Alteraciones enzimáticas después de la agresión traumática o quirúrgica. XXV Congrès de la Société Internationale de Chirurgie. Barcelona, Septiembre, 1973.
21. Rudolph, L. A.; Dutton, R.; Schafer, J. A.: Glutamic Oxalacetic transaminase levels in experimental tissue damage. «J. Clin. Invest.», 34:960, 1955.
22. Schade, J.; Neukirch, P.; Halpert, A., (1921): Citado por Voegtlin, Kahler y Fitch, 1935.
23. Selmecki, L. E.; Posch, E.; Balogh, E.: Effect of tourniquet on total lactate dehydrogenase (LDH) activity and isozyme pattern of rat serum. «Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.», 38:125, 1970.
24. Solonen, K. A.; Tarkanen, L.; Näränen, S.; Gordin, R.: Metabolic changes in the upper Limb during tourniquet ischemic. «Acta Orthop. Scandinav.», 39:20, 1968.

25. **Vara, R.:** Modificaciones de la actividad enzimática del L.C.R. humano en los procesos tumorales, inflamatorios, traumáticos y vasculares encefálicos. «Rev. Clín. Esp.», 101:100, 1966.
26. **Voegtlin, C.; Kahler, H.; Fitch, R. H.:** The estimation of the hydrogen ion concentration of tissues in living animals by means of the capillary glass electrode. «Nat. Inst. Hlth. Bull.», 164:15, 1935.
27. **Wroblewski, F.; La Due, J. S.:** Lacto-dehydrogenase Activity in blood. «Proc. Soc. Exper. Biol. Med.», 90:210, 1955.