



## 234 - ANÁLISIS SIMULTÁNEO DE LACTATO, PIRUVATO, beta-HIDROXIBUTIRATO Y ACETOACETATO POR CROMATOGRAFÍA DE GASES Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS

G. Casals<sup>1</sup>, R. Wijngaard<sup>1</sup>, M. Olivares<sup>2</sup>, V. Olivares<sup>3</sup> y G. Fernández-Varo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Hospital Clínic de Barcelona. IDIBAPS. CIBEREHD. Barcelona.

<sup>2</sup>Farmacia. Instituto Químico de Sarriá. Barcelona. <sup>3</sup>Farmacia. Universidad Mayor. Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca. Sucre. Bolivia.

### Resumen

**Introducción:** La determinación de lactato, piruvato y cuerpos cetónicos es útil en el estudio de alteraciones metabólicas asociadas a la *diabetes mellitus*. El objetivo del presente estudio fue desarrollar y validar un método para la determinación sensible y específica de lactato, piruvato,  $\beta$ -hidroxibutirato y acetoacetato mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas, tecnología *gold standard* para el análisis de metabolitos.

**Métodos:** El método incluye la utilización de estándares internos isotópicos y se basa en una precipitación de las proteínas de las muestras, seguida de derivatización con o-fenilendiamina, extracción con acetato de etilo, derivatización con BSTFA:TMCS e inyección en cromatógrafo (Shimadzu GCMS-QP2010). La validación del método se realizó en muestras de sangre (plasma EDTA; 200  $\mu$ L) y tejido hepático (200 mg). Se evaluó la linealidad, exactitud y precisión del método, y la estabilidad de las muestras una vez procesadas.

**Resultados:** El método presenta una buena linealidad ( $r > 0,99$ ) en el rango 10-5.000 ng/ml (lactato) y 1-1.000 ng/ml (piruvato,  $\beta$ -hidroxibutirato y acetoacetato). La exactitud fue 98-105% para lactato, 101-103% para piruvato, 91-101% para  $\beta$ -hidroxibutirato y 84-109% para acetoacetato. La imprecisión obtenida en muestras de sangre y tejido hepático fue  $< 8\%$  (intraensayo) e  $< 10\%$  (internensayo). El tiempo de procesamiento de las muestras es de 4-5 horas por serie de muestras (15-20 muestras) y el tiempo de cromatograma de 10 minutos/muestra. Las muestras una vez inyectadas en el cromatógrafo son estables al menos durante 96 horas.

**Conclusiones:** El método validado permite la determinación simultánea mediante espectrometría masas de lactato, piruvato,  $\beta$ -hidroxibutirato y acetoacetato de forma sensible con buena precisión y exactitud, siendo de utilidad en el estudio de alteraciones metabólicas asociadas a la diabetes mellitus en muestras clínicas y de investigación.