



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION DE VALORES DE  $P_{50}$  EN UN  
GRUPO DE 60 PERSONAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

María Eugenia de los Angeles Lugo Trejo



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.

CLAS TESIS 1979

LIB M.C. a

FICHA 205

REC                     



Jurado asignado originalmente  
según el tema.

PRESIDENTE DEA CORONADO PERDOMO

V O C A L ESTHER GUTIERREZ HIDALGO

SECRETARIO LETICIA CARRASCO

1er. SUPLENTE JOSE LUIS DOMINGUEZ TORI

2do. SUPLENTE GENOVEVA ABDALA

Sitio donde se desarrolló el tema: INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION

Nombre completo y firma del sustentante: Mrs. Eugenia Lopez S.

Nombre completo y firma del asesor del tema: [Firma]

Nombre completo y firma del supervisor técnico [Firma]  
(si lo hay)

CON CARIÑO Y RESPETO A MIS PADRES  
QUE SIEMPRE CON SU EJEMPLO Y APO-  
YO ME ALENTARON EN LA VIDA E HI -  
CIERON POSIBLE LA REALIZACION DE  
MIS ESTUDIOS PROFESIONALES:

SRA. MA. DE LOS ANGELES TREJO DE LUGO

Y

SR. AMADOR LUGO GUADARRAMA

CON AGRADECIMIENTO AL  
DR. JAVIER RAMIREZ ACOSTA POR  
SU AYUDA Y COLABORACION EN EL  
DESARROLLO DE ESTE TRABAJO.

A LA MAESTRA MA. ESTHER GUTIERREZ HIDALGO  
CON SINCERO AGRADECIMIENTO POR SU ORIEN-  
TACION Y DIRECCION EN LA ELABORACION  
DE ESTA TESIS.

A MI HERMANO CARLOS AMADOR  
Y A MIS TIAS.

A MARCO ANTONIO



## I N D I C E

	<b>Pag.</b>
	<b>1</b>
INTRODUCCION	<b>1</b>
CAPITULO I. Generalidades	<b>5</b>
CAPITULO II. Material y Métodos	<b>38</b>
CAPITULO III. Resultados	<b>46</b>
CAPITULO IV. Discusion y conclusiones	<b>53</b>
RESUMEN	<b>58</b>
BIBLIOGRAFIA	<b>61</b>

INTRODUCCION

## I N T R O D U C C I O N

La curva de la oxihemoglobina muestra la relacion que hay entre la presión parcial de oxígeno ( $PO_2$ ) y el porcentaje de hemoglobina que lo transporta. Cuando la sangre pasa a los vasos sanguíneos y los tejidos, el oxígeno es liberado por la hemoglobina y en consecuencia disminuye la cantidad de oxihemoglobina ( $HbO_2$ ). Los factores que controlan la liberación de oxígeno a los tejidos son: a) concentración de  $HbO_2$ , b) flujo sanguíneo, c) la  $PO_2$  y d) la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Si esta afinidad aumenta se dificulta la entrega de oxígeno a los tejidos, para compensar esta situación existen varios mecanismos como son el aumento del flujo sanguíneo que propicia el paso de mayor volumen sanguíneo por los tejidos en la unidad de tiempo, y la disminución de la  $PO_2$  de los tejidos, estableciendo una diferencia de gradiente mayor de dicha  $PO_2$  que facilite la oxigenación de los mismos. (1)

La  $P_{50}$  es la  $PO_2$  a la cuál la hemoglobina está en un 50% saturada con oxígeno. Este valor define los cambios re-

lativos en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno.

Lavoisier y Priestly en 1774 reconocieron que el color de la sangre y el oxígeno del aire estaban relacionados Berzelius en 1895 dijo que la propiedad de transportar oxígeno residía en la substancia colorante de la sangre y que estaba relacionada con el fierro. Hopper-Seyler en 1859 estudió la espectroscopía del pigmento de la sangre, pero fué hasta 1917 cuando Hasselbalch realizo las primeras observaciones de la curva de disociación de la oxihemoglobina (CDO). (2)

La  $P_{50}$  puede variar debido al efecto de factores como el pH, la presión de  $CO_2$  ( $PCO_2$ ), la saturación de metahemoglobina, la fuerza iónica, la saturación de la hemoglobina por el  $CO_2$  y la concentración del ácido 2,3 difosfoglicérico (2,3 DPG). (3)

El valor de la  $P_{50}$  es un dato importante para determinar la capacidad sanguínea de transporte y liberación de oxígeno, mismo que resulta de gran utilidad en la valoración de algunas situaciones patológicas.

Con el propósito de conocer la influencia de la altitud sobre la  $P_{50}$ , en el presente estudio se determinaron -

los valores de la  $P_{50}$  en las condiciones de la ciudad de México (2,240 metros sobre el nivel del mar) a 64 sujetos que fueron divididos en dos grupos, uno de fumadores y otro de no fumadores, considerados como normales, para poder establecer la comparación de estos datos con los informados por otros autores al nivel del mar.

CAPITULO I

GENERALIDADES

## GENERALIDADES

La hemoglobina en su estructura actual es una proteína respiratoria con importantes propiedades funcionales, responsable del transporte de oxígeno en los mamíferos terrestres.

Muchos aspectos de su función fueron descritos con claridad, detalle y precisión por los grandes fisiólogos del período comprendido entre 1900 y 1930. Joseph Barcroft en su eminente monografía de 1928, señalaba que: a) la hemoglobina es capaz de transportar grandes cantidades de oxígeno, b) se requiere una gran solubilidad de la misma para realizar tal función, c) ésta debe unirse con el oxígeno a una velocidad adecuada, en la cantidad necesaria, en las condiciones que se encuentra en la sangre y liberarlo en los tejidos. El ácido carbónico tiende a desplazar el oxígeno de la hemoglobina, el efecto contrario se observa en las soluciones alcalinas. (4)

Bohr en 1892 describió por primera vez la CDO y le dió la forma sigmoide; recientemente se ha podido expli-

car esta forma en "S" de acuerdo a su estructura y propiedades. (3)

#### I. ASPECTOS FUNCIONALES IMPORTANTES DE LA ESTRUCTURA DE LA HEMOGLOBINA.

Las proteínas tienen una estructura primaria, es decir, una composición de aminoácidos por orden de sucesión, fijado desde el punto de vista genético, en tanto que las estructuras secundaria y terciaria son influenciadas tanto por los componentes intrínsecos como por el ambiente. La hemoglobina humana está constituida por dos pares distintos de cadenas de aminoácidos, cada una con un sitio de enlace para el oxígeno, llamado grupo hem. Aproximadamente el 90% de la hemoglobina de los eritrocitos del adulto es hemoglobina A, compuesta por dos cadenas alfa y dos cadenas beta. En el varón adulto, la hemoglobina A<sub>2</sub>, contiene dos cadenas alfa y dos cadenas delta, constituye sólo de 0 a 2.5 por ciento, en tanto que hay menos del 1 por ciento de hemoglobina F, con dos cadenas alfa y dos cadenas gamma.



La cadena alfa tiene 141 aminoácidos y la cadena beta 146. La estructura primaria de estas cadenas se determinó en 1967, su estructura secundaria tiene una proporción relativamente grande de espirales alfa, hay siete segmentos distintos de siete a veintidós aminoácidos para la conformación de la espiral alfa en las cadenas alfa (llamadas A, B, C, E, F, G y H), y ocho segmentos de la espiral alfa de las cadenas beta (llamadas A, B, C, D, E, F, G y H). Las espirales están unidas por puentes de aminoácidos en una distribución al azar. Los segmentos helicoidales tienen una posición claramente definida en el espacio, así por ejemplo, en la estructura terciaria la espiral A está cerca de las G y H. Las espirales E y F forman una hendidura hidrófoba en la cuál está insertada la mitad del hem. A la relación espacial de las cuatro cadenas subunidades se les denomina estructura cuaternaria de la hemoglobina.

El hecho de que los cristales de la oxihemoglobina son de forma acicular, distintos a los de la hemoglobina mal llamada reducida que son hexagonales, fué el primer indicio del conocimiento de que la reacción de la hemoglobina con el oxígeno se acompaña de un cambio en su estructu

tura molecular durante la oxigenación. Perutz propuso que la combinación de una molécula de oxígeno con un grupo hem altera la posición del ión ferroso en el anillo hem.

Esto a su vez desencadena una serie de acontecimientos fisiocquímicos que altera la posición de la cadena peptídica de modo que se rompe el puente salino con una cadena vecina, lo que da por resultado un cambio en la afinidad del grupo hem por el oxígeno en esta cadena. Por lo tanto cada combinación de una molécula de oxígeno con el grupo hem facilita la fijación del siguiente. Hay estudios que sugieren que durante la oxigenación del tercer hem cambia la estructura cuaternaria de la hemoglobina. Estas reacciones moleculares son causa de la forma sigmoide de la curva de disociación de la oxihemoglobina. (3,4,5)

Además de la forma, la posición de la CDO es también indicadora de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. La fig.I ilustra que una proteína monómera como la mioglobina tiene una afinidad mucho más grande por el oxígeno que la tetrámera como la hemoglobina.

Así, la estructura cuaternaria de la molécula impone limitaciones en los monómeros según Perutz, estas limitaciones --

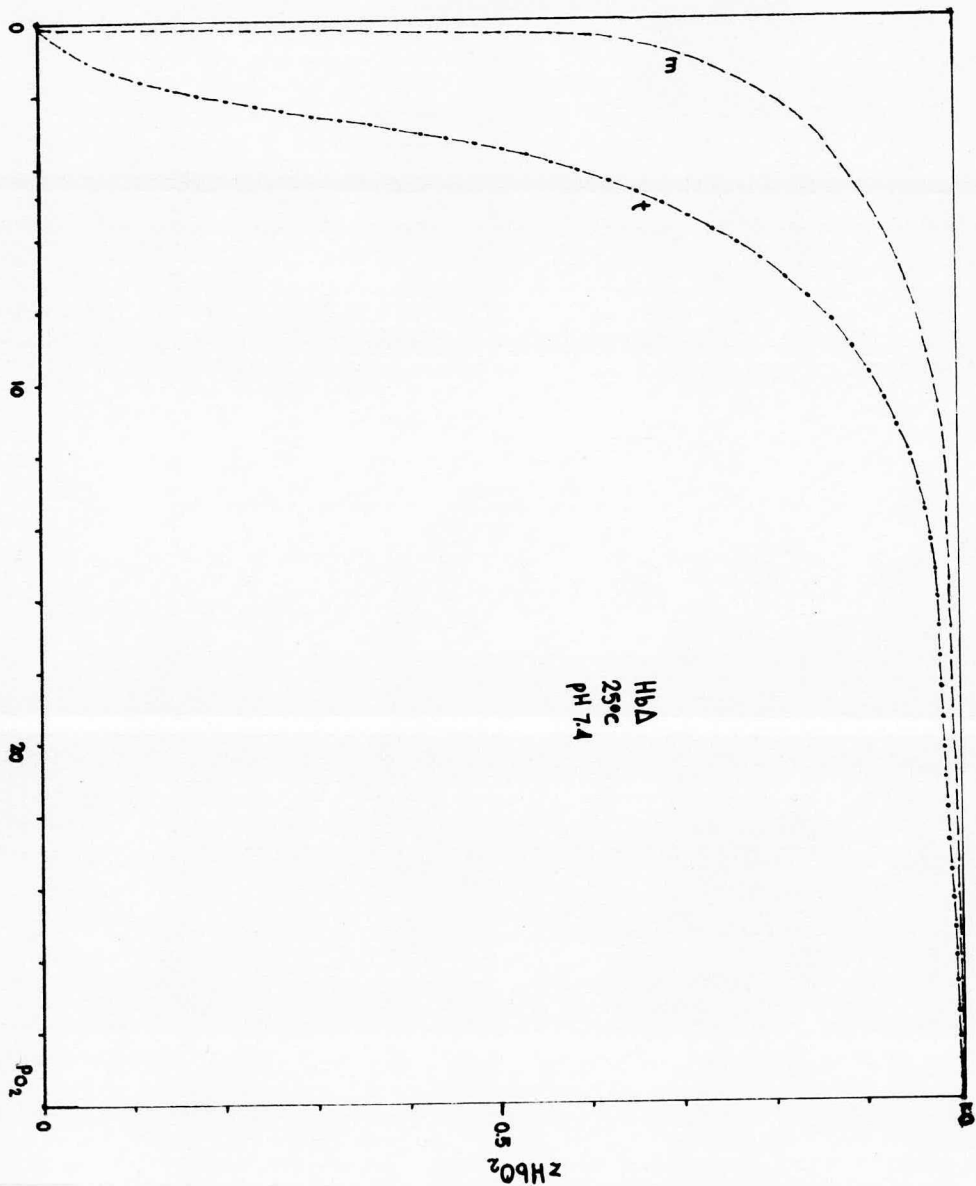


Fig. I - CURVA DE DISOCIACION DE OXIHEMOGLOBINA DE LA HEMOGLOBINA MONOMERA (m) Y DE LA HEMOGLOBINA TETRAMERA (t).

son seis puentes salinos enlazados con el oxígeno (cuya posición real se ha identificado ya y deben ser rotos antes de que sea completa la oxigenación del tetrámero.

De aquí que la curva de disociación del monomero no tenga una forma sigmoide, y si mayor afinidad por el oxígeno a causa de la falta de puentes salinos. (3)

## II. FACTORES QUE AFECTAN LA CURVA DE DISOCIACION DE LA OXIHEMOGLOBINA.

La afinidad de la hemoglobina por el oxígeno es definida por la  $P_{50}$  la cuál representa la presión parcial del oxígeno donde el 50% de la hemoglobina esta enlazado con el oxígeno a un pH de 7.4 y  $37^{\circ}\text{C}$  de temperatura (fig. II curva A). El valor normal de  $P_{50}$  es aproximadamente de 26 mm Hg al nivel del mar. Una disminución en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno representa una desviación hacia la derecha de la curva de disociación de la oxihemoglobina (CDO) y es por lo tanto representado por un aumento en la  $P_{50}$  (fig. II curva B), mientras que un aumento representa una desviación hacia la izquierda de la curva de

disociación y una disminución en la  $P_{50}$  (fig.II curva C). La forma sigmoide normal de la CDO es particularmente apropiada para esta función. El grado de desviación hacia la derecha o hacia la izquierda tiene un pequeño efecto sobre la saturación de oxígeno arterial, cuando la  $PO_2$  esta dentro de los límites normales al nivel del mar (80 a 100 mm Hg).

En los vasos capilares, un pequeño cambio en la  $PO_2$  está asociado a un cambio significativo en la saturación de oxígeno de la sangre. Sin embargo, si la diferencia de la saturación de oxígeno arterio-venosa permanece constante, una desviación a la derecha es acompañada por un aumento en la mezcla de la presión de oxígeno venosa, ( $P_{VO_2}$ ) (fig. II curva B) y una desviación a la izquierda esta acompañada por una disminución en la  $P_{VO_2}$  (fig.II curva C).

Si la  $P_{VO_2}$  permanece constante, resulta que la saturación arterio-venosa de oxígeno aumenta con una desviación a la derecha y disminuye con una desviación hacia la izquierda. Como la cantidad de oxígeno, transferida de la sangre a la mitocondria es relativamente la presión diferencial de oxígeno, puede decirse que una desviación hacia la dere-

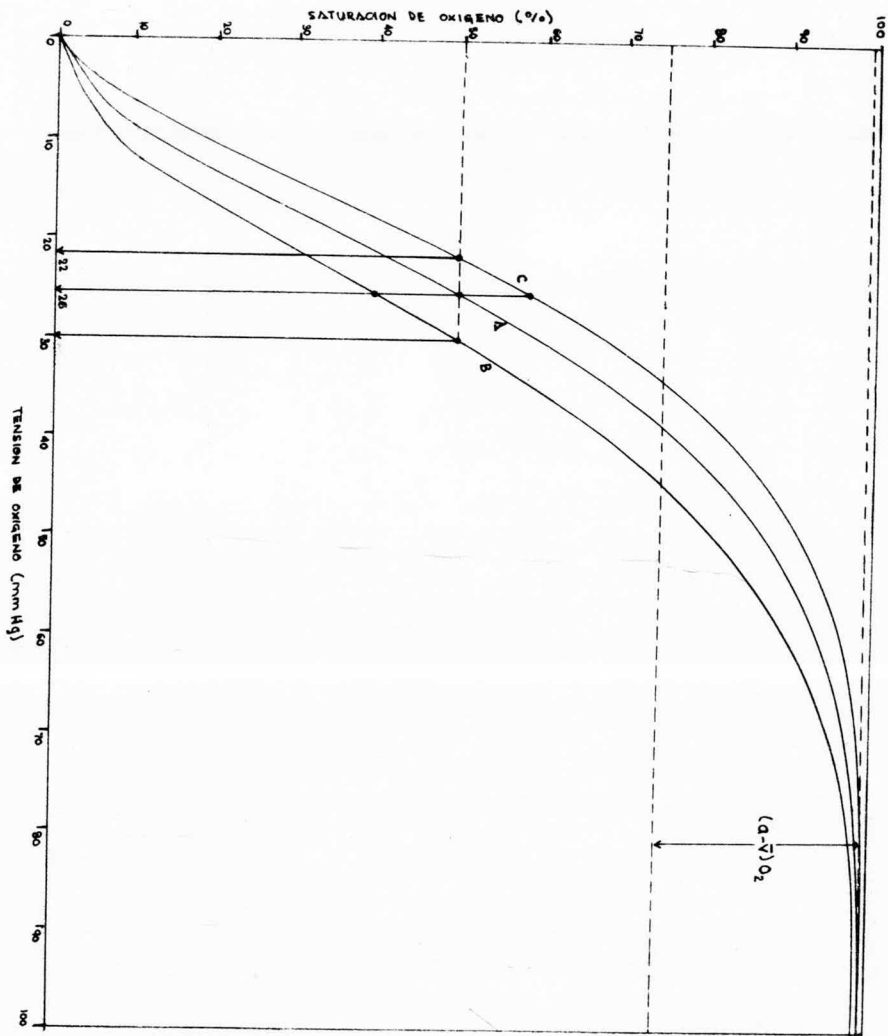


FIG. II - CURVAS DE DISOCIACION DE OXIHEMOGLOBINA NORMAL (A), DESPLAZADA A LA DERECHA (B) Y DESPLAZADA A LA IZQUIERDA (C), MOSTRANDO AFINIDAD NORMAL, DISMINUIDA Y AUMENTADA DE LA HEMOGLOBINA POR EL OXIGENO, RESPECTIVAMENTE. UNA DIFERENCIA NORMAL DE REPOSO DE OXIGENO ARTERIOVENOSO PUEDE MANTENERSE UNICAMENTE POR UN INCREMENTO EN  $P_{VO_2}$  (TENSION MIXTA DE OXIGENO VENOSO EN EL CASO DE UN DESPLAZAMIENTO A LA DERECHA (CURVA B) O POR UN DECREMENTO EN  $P_{VO_2}$  EN EL CASO DE UN DESPLAZAMIENTO A LA IZQUIERDA (CURVA C) SI EL GASTO CARDIACO NO CAMBIA.

cha facilita esta transferencia y una desviación hacia la izquierda la afecta. (6)

A continuación se exponen los factores que afectan la CDO.

a) Temperatura.

Paul Bert en 1872 observó que la sangre estaba saturada con  $O_2$  en un 90%, bajo una tensión de oxígeno de 15 mm Hg a la temperatura ambiente, en tanto que sólo lo estaba en un 50% bajo la misma tensión a temperatura corporal. Barcroft y King en 1909 confirmaron estas observaciones en las soluciones de hemoglobina y en la sangre total.

La disminución en la afinidad por el oxígeno ( cambio de la curva hacia la derecha) al aumentar la temperatura coincide con el hecho de que la reacción del oxígeno con la hemoglobina es exotérmica. Diversos investigadores han determinado la magnitud del cambio de la CDO de la san gre total con la temperatura en términos de una ecuación que relaciona los cambios de la  $PO_2$  con la temperatura a una saturación constante. Severinghaus al preparar su re

gla de cálculo de los gases sanguíneos, revisó este trabajo y utilizó la siguiente ecuación: (3,5,6)

$$\log PO_2 = 0.024 T$$

b) Iones de hidrógeno y bióxido de carbono.

El efecto Bohr relaciona la influencia de la concentración de los iones hidrógeno con la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. El nombre data de las observaciones de Bohr, Hasselbalch y Krogh, quienes notaron que el CO<sub>2</sub> influía en la posición de la curva y por lo tanto daba la primera indicación de que la acidez del ambiente podía cambiar la CDO.

Como ya se explicó, la oxigenación de la hemoglobina se acompaña de ruptura de los puentes salinos en la molécula de la hemoglobina. La escisión de dos de estos puentes provoca la liberación de un grupo ácido, que da como resultado una disminución en el pH liberándose protones con más facilidad.

Así la oxihemoglobina es un ácido más fuerte que la llamada hemoglobina reducida, como resultado los protones son fijados preferentemente por esta forma; esta fijación



se acompaña de una disminución en la afinidad por el oxígeno y cambia la CDO hacia la derecha.

Los efectos del  $\text{CO}_2$  en la curva pueden dividirse en el efecto clásico de Bohr, y en un efecto del  $\text{CO}_2$  por sí mismo, puesto que este compuesto se puede combinar con grupos amino no cargados para formar compuestos carbámino.

La magnitud del efecto Bohr puede explicarse por una saturación constante de la hemoglobina por el oxígeno con el consiguiente cambio de la  $\text{PO}_2$  producida por una unidad de cambio en el pH. Durante muchos años se pensó que el valor numérico relacionado con estos factores era constante; sin embargo, parece que varía. En la actualidad se conocen los siguientes valores : a)  $\log \text{PO}_2 = -0.48$ , cuando el cambio del pH es inducido por un cambio en la concentración de  $\text{CO}_2$ ; b)  $\log \text{PO}_2 = -0.40$ , cuando el cambio del pH es un inducido por un ácido o una base distintos al  $\text{CO}_2$ , y cuando la concentración de  $\text{CO}_2$  y del fosfato orgánico 2,3 DPG se conserva constante.

(3,6)

c) Acido 2,3 difosfoglicérico y trifosfato de adenosina.

En la mayoría de los mamíferos, el ácido 2,3 difos-

foglicérico (2,3 DPG) es el fosfato orgánico más importante dentro del eritrocito. En el hombre se encuentra en una concentración cuatro veces mayor que el trifosfato de adenosina (ATP). Aunque se sabía que era producido por una reacción colateral de la glucólisis, por muchos años nadie pudo determinar ninguna reacción bioquímica o fisiológica de este compuesto dentro del eritrocito. Benesch y Benesch en -- 1967, en Nueva York, y Chauntin y Curnish en Virginia, demostraron que el 2,3 DPG podía influir en la posición de la CDO. Se encontró que este compuesto ya estaba enlazado de preferencia con la hemoglobina y de aquí que disminuya la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Los sitios de fijación se identificaron más adelante, y parece que el fenómeno de fijación de este fosfato orgánico es influenciado por el pH,  $PCO_2$ , la temperatura, otros aniones y concentraciones de hemoglobina. Por lo tanto no es sorprendente que no se disponga hasta ahora de una cuantificación precisa del efecto del 2,3 DPG, pero su efecto es un poco menor. (3,5,6)

d) Otros ligandos de la hemoglobina.

Otras sustancias además del oxígeno pueden formar enlaces con la hemoglobina y el sitio de fijación ocurre en diferentes grupos de la molécula de globina. De estos ligandos algunos tienen una fijación preferencial con la  $HbO_2$  o la Hb. Esta fijación diferencial de las moléculas coordinadas da por resultado un cambio en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y un cambio en la posición de la CDO. Las moléculas de coordinación que se fijan con más facilidad para reducir la hemoglobina disminuyen la afinidad de ésta por el oxígeno y producen una desviación de la curva hacia la derecha. La relación entre la fijación preferencial de los ligandos y la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno se puede resolver con base en la termodinámica fundamental de equilibrio en términos de una ecuación de enlace. Para los objetivos fisiológicos es suficiente sin embargo estar al tanto de que iones de hidrógeno,  $CO_2$ , aniones inorgánicos,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{--}$  y fosfatos orgánicos se fijan con mayor facilidad a la hemoglobina, y por lo tanto disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y cambia la CDO hacia la derecha. (3)

e) Fuerza iónica.

La fuerza iónica puede afectar también la CDO en un grado importante. En general el aumento de la concentración de sales propicia una desviación hacia la derecha dependiendo de las especies de iones presentes. Los cambios de la  $P_{50}$  debido a la concentración de sales en células intactas están complicados por los concomitantes cambios osmóticos en la concentración de hemoglobina corpuscular. (6)

f) Influencias hormonales.

La influencia de algunas hormonas también afecta la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. La hormona tiroidea aumenta la síntesis del 2,3 DPG, disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. La hormona tiroidea inducida, aumenta la  $P_{50}$  en tirototoxicosis, sin embargo, su importancia en la homeostasis tiroidea no es muy clara. La presencia de interacciones  $P_{50}$ -tiroides sugieren que la hormona tiroidea puede ser reguladora de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno en estado normal. (6)

Experimentos en conejos han sugerido que el cortisol y la aldosterona pueden disminuir la afinidad de la hemo--

globina por el oxígeno. Estos compuestos producen efectos - cuando son inyectados, pero no cuando se incuban con eritrocitos. (6)

McConn, sin embargo han informado recientemente un efecto - del 2,3 DPG y  $P_{50}$  en la incubación de sangre ACD (ácido, citrato dextrosa) con metil predisolona.

La edad de las células también influye en la  $P_{50}$ . Los eritrocitos jóvenes tienen menos afinidad por el oxígeno, mientras que las células viejas tienen gran afinidad. Este efecto ha sido observado generalmente pero no uniformemente y se atribuye a una declinación del 2,3 DPG en la célula vieja, presumiblemente como resultado de la disminución de la actividad de las enzimas glucolíticas. (6)

Tabla 1. Causas de alteracion de la curva de disociacion de la oxihemoglobina.

Factores que aumentan la P <sub>50</sub> .	Factores que disminuyen la P <sub>50</sub> .
<p>Por accion directa o desconocida:</p> <p>Aumento de temperatura.</p> <p>Aumento de H<sup>+</sup>.</p> <p>Aumento de 2,3 DPG y ATP.</p> <p>Aumento de la cencentración de Hb.</p> <p>Aumento de la fuerza ionica.</p> <p>Hemoglobinas anormales.</p> <p>Cortisol.</p> <p>Aldosterona.</p> <p>Fosfato de piridoxol ( en hemo globina en solucion).</p> <p>Edad de las celulas ?.</p>	<p>Por accion directa:</p> <p>Disminucion de la temperatura.</p> <p>Disminucion de H<sup>+</sup>.</p> <p>Disminucion de PCO<sub>2</sub>.</p> <p>Disminucion de 2,3 DPG y ATP.</p> <p>Disminucion de la concentra - cion de Hb.</p> <p>Disminucion de la fuerza ionica.</p> <p>Hemoglobinas anormales.</p> <p>Carboxihemoglobina.</p> <p>Metahemoglobina.</p> <p>Edad de las celulas ?.</p>

### III. CURVA DE DISOCIACION DE LA SANGRE TOTAL.

La inclusión de la hemoglobina dentro del eritrocito la coloca en un ambiente en el que existen moléculas de coordinación distintas al  $O_2$ , en concentraciones variables bajo condiciones diferentes. Así, es una situación muy compleja que no se comprende en su totalidad. La hemoglobina existe en el eritrocito en concentraciones muy grandes, algunas investigaciones sugieren que esto influye en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y que una concentración de hemoglobina celular media elevada se acompaña de disminución en la afinidad.

El concepto de que el eritrocito es una célula pasiva que actúa nada más como agente de transporte de  $O_2$  es -- una simplificación muy exagerada. Aunque el eritrocito no tiene mitocondrias, puede metabolizar glucosa por glucólisis lo mismo que por la derivación de hexosa monofosfato y es una unidad metabólica activa ( fig.III). El descubrimiento de que los metabolitos como el 2,3 DPG y el ATP pueden influir en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno relacionó por primera vez el metabolismo del eritrocito con

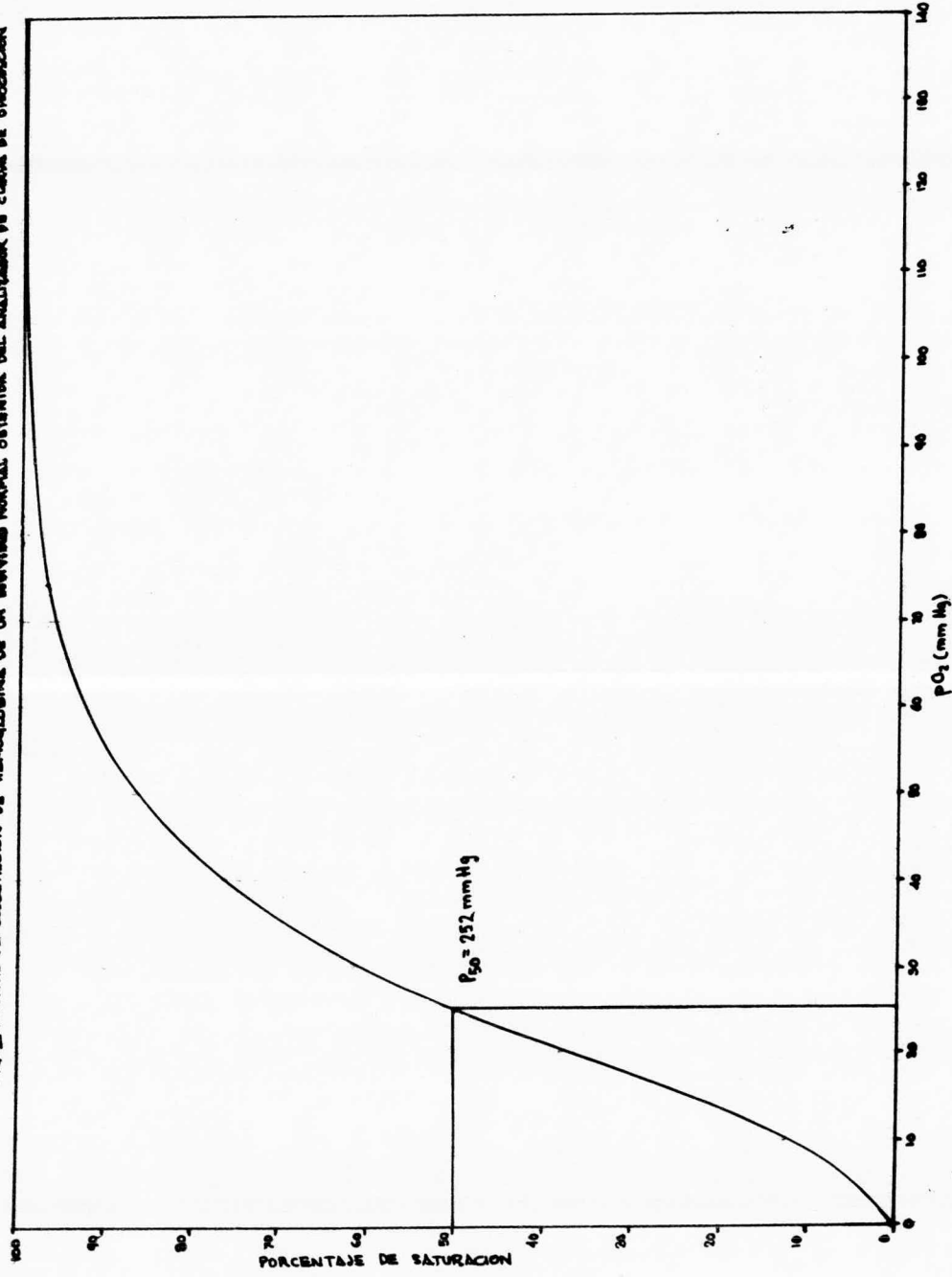




su función fisiológica.

En la figura No.IV se ilustra la CDO en la sangre total. Como objetivos de comparación se define la posición de la curva como la  $PO_2$  a una saturación de 50% bajo condiciones estándar, es decir,  $37.5^{\circ}C$  y pH plasmático de 7.4. Para el hombre normal la  $P_{50}$  es de 26.52 mm Hg. El pH que influye en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno no es el sérico, sino el intraeritrocítico. Hay un gradiente de pH a través de las membranas eritrocíticas, en el hombre normal es de 0.2 de unidad; si el pH sérico es de 7.4, el pH intraeritrocítico es de 7.2. Este gradiente es el resultado de la distribución diferencial de iones entre el plasma y el eritrocito y se debe al equilibrio de Gibbs-Donnan, es decir, cuando hay un gran ión no difusible a un lado de una membrana semipermeable, los iones restantes se distribuyen de modo que se produce electroneutralidad. A pH fisiológico, la hemoglobina es un anión grande no difusible; sin embargo el fosfato orgánico 2,3 DPG también contribuye al equilibrio, puesto que es un anión no difusible. El aumento de la concentración de cualquier ión no difusible disminuye el pH intraeritrocítico, y mediante el efecto

FIG. IV - CURVA DE DISOCIACION DE HEMOGLOBINA DE UN SERVIDO NORMAL OBTENIDA DEL ANALISIS DE CURVA DE DISOCIACION

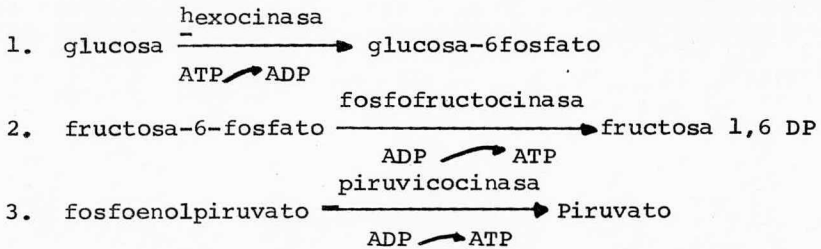


de Bohr baja la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno de dos maneras: a) efecto directo a través de fijación en la hemoglobina, b) de manera indirecta por disminución del pH del eritrocito: efecto Bohr.

Regulación metabólica de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno.

La función única del 2,3 DPG indica que podría ser perfectamente el regulador metabólico del transporte de  $O_2$  por el eritrocito. Durante muchos años se pensó que la única respuesta metabólica del cuerpo a la disminución del abastecimiento de oxígeno era una reacción de piruvato y lactato, que servía como medio para regenerar el NAD a partir de NADH para fomentar la continuación de la glucólisis. Esta reacción está limitada por sí misma, sin embargo a causa de los efectos del ácido láctico en el sistema hemodinámico se ha encontrado que la hipoxia se acompaña de aumento del 2,3 DPG in vitro. Esta observación ha dado lugar a la creencia actual de que el 2,3 DPG desempeña una función principal en la respuesta metabólica a la hipoxia. Se están haciendo estudios para determinar con exactitud -

como está regulada esta respuesta. La concentración de 2,3 DPG depende de la concentración de 1,3 DPG y ésta a su vez del ritmo glucolítico. Hay tres etapas limitantes del ritmo en la glucólisis:



Los conocimientos sugieren que la hexocinasa es estimulada en presencia de una concentración circulante baja de hemoglobina, en tanto que la fosfofructocinasa es estimulada por un pH alcalótico. El aumento del pH puede ocurrir incluso como resultado de hiperventilación, aumento en la cantidad de hemoglobina reducida o ambas cosas, puesto que esta última al haber menos hemoglobina ácida que oxidada elevaría también el pH eritrocítico. Así, en términos clínicos anemia, hiperventilación e hipoxemia arterial podrían estimular la glucólisis, aumentar las concentraciones de 2,3 DPG, y por lo tanto desencadenar la respuesta metabólica a la hipoxemia. (3)

IV. METODOS DE MEDICION DE LA CURVA DE DISOCIACION DE  
OXIHEMOGLOBINA DE LA SANGRE.

1. Técnica de equilibrio in vitro.

La sangre se expone a gases húmedos a concentración variable de CO<sub>2</sub>, concentración constante de O<sub>2</sub> y equilibrio de nitrógeno en un sistema de tonometría.

Puede usarse de manera alternativa la ecuación de Hill:

$$\log \frac{y}{100-y} = \log K + n \log P$$

y = porcentaje de saturación (HbO<sub>2</sub>).

K = constante.

n = 2.6

P = presión parcial de oxígeno.

Se obtienen los valores de P<sub>50</sub> al resolver la ecuación con el equivalente y = 50.

2. Técnica de mezcla de Edwards y Martin.

Se basa en el principio que señala que la PO<sub>2</sub> medida de una muestra de sangre obtenida por mezcla anaeróbica de volúmenes iguales de sangre oxigenada por completo y desoxigenada por completo es igual a la P<sub>50</sub> de esa sangre-

al pH señalado.

### 3. Analizador de curva de disociación.

Duvelleroy y col. desarrollaron un instrumento que utiliza electrodos de oxígeno y que permite hacer un análisis rápido y completo de la CDO. La técnica ofrece la ventaja de que se obtiene una curva completa de la medición de la captación de oxígeno con una muestra de sangre desoxigenada. El análisis se puede llevar a cabo en unos 30 minutos y requiere de 10 ml de sangre aproximadamente. La única preparación previa necesaria es desaturación completa de la sangre mediante una mezcla gaseosa de 95% de  $N_2$  y 5% de  $CO_2$ .

### 4. Nomograma de Canizaro.

Este nomograma permite calcular el valor  $P_{50}$  a partir de la  $PO_2$  y del porcentaje de saturación de una muestra de sangre venosa.

### 5. Regla de cálculo de Severinghaus.

De manera alternativa puede obtenerse la  $P_{50}$  a partir de la  $PO_2$  y la saturación de oxígeno de la sangre venosa -

mediante la fórmula de Severinghaus:

$$P_{50} \text{ estimada: } 26.6 \frac{PO_2}{PO_2 \text{ sat.}}$$

La  $PO_2$  sat. es la  $PO_2$  en la curva estándar de disociación correspondiente a la saturación medida.

Con objetivos de comparación es necesario corregir la  $P_{50}$  obtenida por cualquiera de los métodos señalados en condiciones estándar de temperatura y pH.

Es aconsejable medir tanto el pH sérico como el eritrocítico cuando se determine el valor  $P_{50}$  en una muestra de sangre, puesto que el gradiente puede variar por diversas razones.

El pH eritrocítico se mide con facilidad por la técnica de Pourcell, en la cuál se concentran los eritrocitos por centrifugación en tubo capilar, se hemolizan mediante un electrodo capilar para pH sanguíneo. Los pH sanguíneo y eritrocíticos serán los del estado ácido-básico de la sangre. (3)

6. Medición de carboxihemoglobina, oxihemoglobina y hemoglobina total por espectrofotometría diferencial automatizada.

Las absorbancias espectrofotométricas, conforme a las longitudes de onda, de componentes separados en una solución simple son adicionados en ausencia de reacciones químicas o de interferencia física; y la absorbancia atribuible a cada especie en una solución diluída, con luz monocromática, es proporcional a la concentración de las especies. El espectro de absorción de hemoglobina (reducida), oxihemoglobina y carboxihemoglobina se muestran en la figura No. V.

Para los tres componentes del sistema hemoglobina (reducida), oxihemoglobina y carboxihemoglobina, las concentraciones de esos tres componentes pueden ser calculadas por la medición de absorbancias a tres longitudes de onda (548, 568 y 578 nm) mediante la resolución de las siguientes ecuaciones simultáneas:

$$A_1 = a_{1Hb} C_{Hb} d + a_{1HbO_2} C_{HbO_2} d + a_{1HbCO} d$$

$$A_2 = a_{2Hb} C_{Hb} d + a_{2HbO_2} C_{HbO_2} d + a_{2HbCO} d$$

$$A_3 = a_{3Hb} C_{Hb} d + a_{3HbO_2} C_{HbO_2} d + a_{3HbCO} d$$



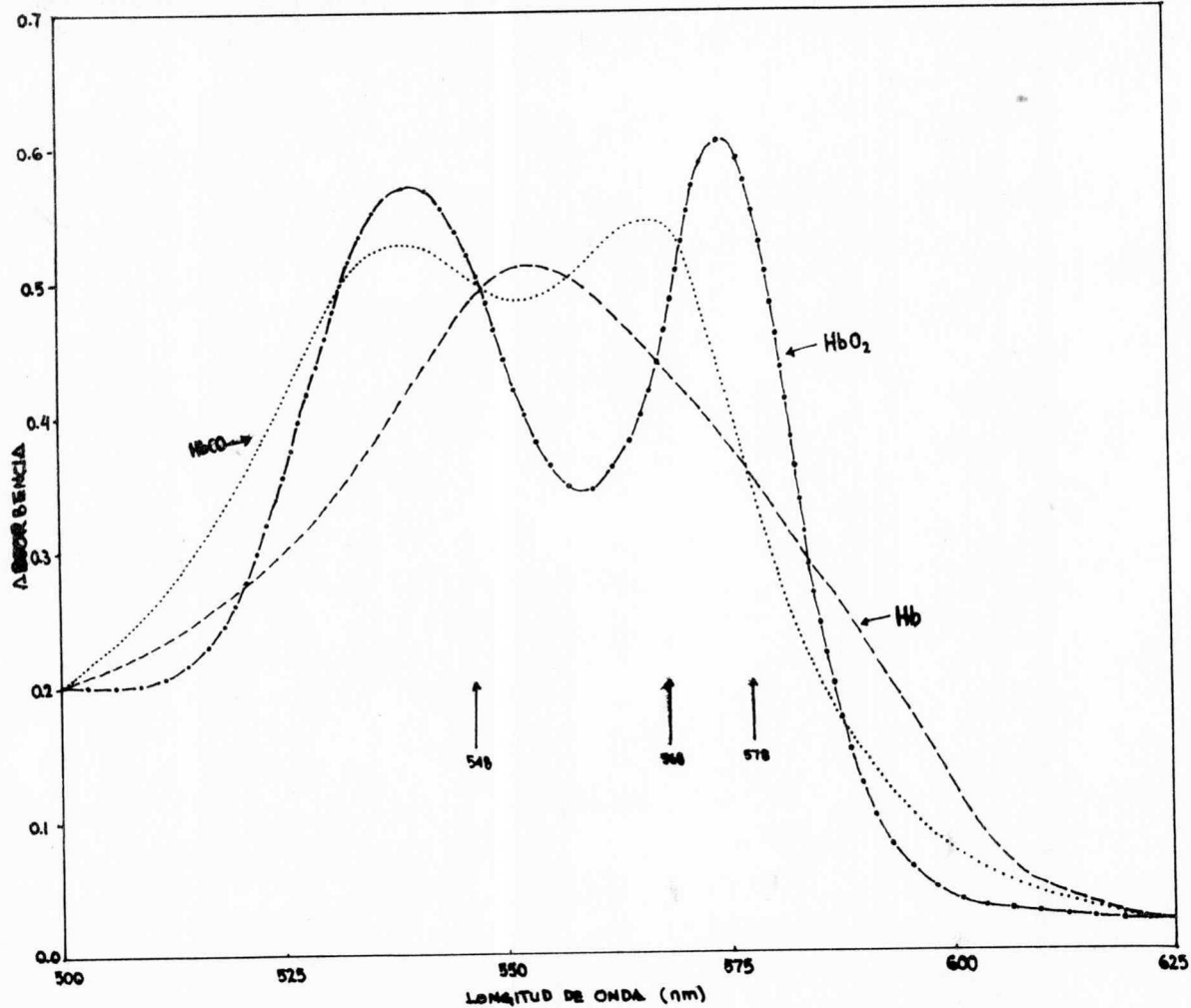


Fig V - ESPECTROS DE ABSORCION DE CONCENTRACIONES IGUALES DE HEMOGLOBINA (REDUCIDA), OXIHEMOGLOBINA Y CARBOXIHEMOGLOBINA EN SOLUCION ACUOSA.

Donde A es la absorbancia a una longitud de onda dada; "a" es la absorptividad de cada una de las especies de hemoglobina a esa longitud de onda; "c" es la concentración de la especie indicada y "d" es la longitud de la cuveta. (7)

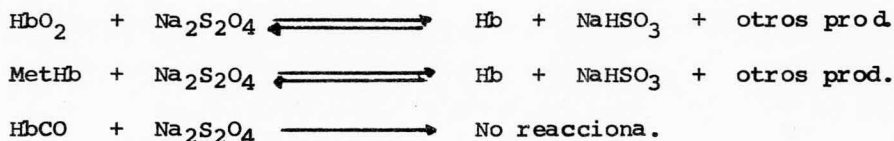
El proceso descrito emplea el CO-Oxímetro que es un espectrofotómetro de especial absorción acoplado a una computadora integral. El instrumento lleva tres mediciones simultáneas de absorbancia ( a 548, 568 y 578 nm) con un dilutor automático que hemoliza la muestra de sangre, calculadas las concentraciones respectivas de las tres especies de hemoglobina ( hemoglobina, oxihemoglobina y carboxihemoglobina) a partir de las correspondientes señales de voltaje por resolución de las ecuaciones con una computadora matriz análoga, las concentraciones de las especies son convertidas dentro del registrador digital a valores de la concentración de hemoglobina total, la saturación de oxihemoglobina y carboxihemoglobina de la muestra de sangre. Los cálculos son hechos por la computadora matriz de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$Hb_{total} = Hb + HbO_2 + HbCO$$

$$\%HbO_2 = \frac{HbO_2}{Hb + HbO_2 + HbCO} \times 100.$$

$$\%HbCO = \frac{HbCO}{Hb + HbO_2 + HbCO} \times 100.$$

Las principales reacciones químicas que se realizan son las siguientes:



#### Substancias que interfieren en la determinación.

##### a) Metahemoglobina.

La metahemoglobina férrica químicamente oxidada tiene un espectro de absorción diferente que interfiere en las tres especies de la hemoglobina.

Las muestras de sangre que contienen concentraciones significativas de metahemoglobina férrica pueden producir valores falsamente bajos en la concentración de hemoglobina y saturación de carboxihemoglobina, como la interferencia espectral de la metahemoglobina a 548 y 578 nm es casi igual, no interfiere apreciablemente con la determinación de la saturación.

ración de oxígeno. Si se sospecha de interferencia de metahemoglobina se puede agregar a la muestra hidrosulfito de sodio para provocar una reducción química de la metahemoglobina.

b) Bilirrubina.

La interferencia espectral de la bilirrubina es pequeña por lo que no es de tomarse en consideración.

c) Sulfohemoglobina.

También interfiere espectralmente con la metodología del CO-Oxímetro. Debido a la dificultad en la preparación de una concentración conocida de sulfohemoglobina no se ha cuantificado esta interacción. Sin embargo, su interferencia espectral en los valores que se obtienen de la hemoglobina, %HbO<sub>2</sub> y %HbCO es probablemente similar a la de la metahemoglobina, afortunadamente la sulfohemoglobina no es un cromóforo común de la sangre. (8)

El principio de operación del CO-Oxímetro y su sistema óptico se muestran en las figuras VI y VII.

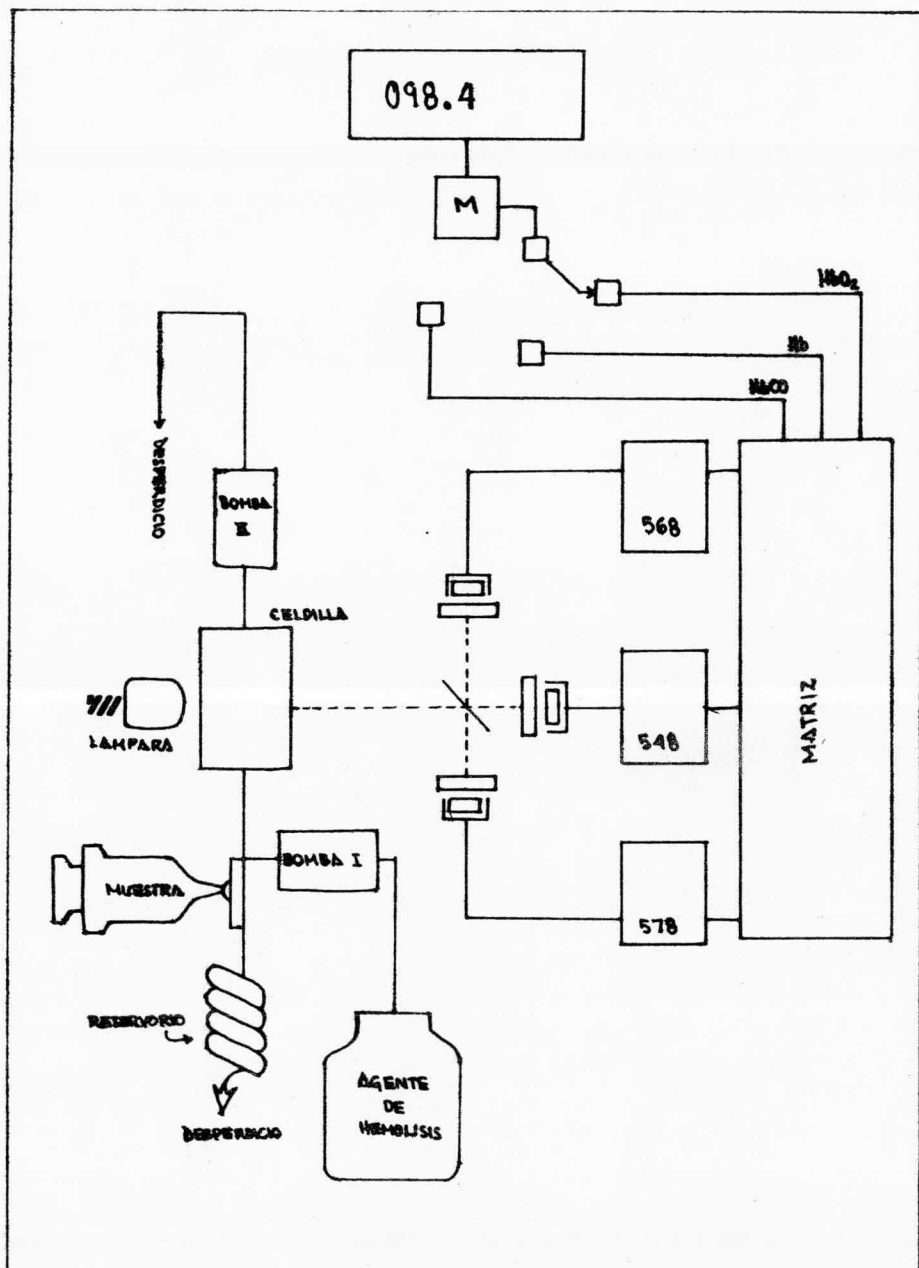


Fig. 21 - EL CO-OXIMETRO. PRINCIPIO ESQUEMATICO DE OPERACION Y DEL SISTEMA ELECTRONICO.

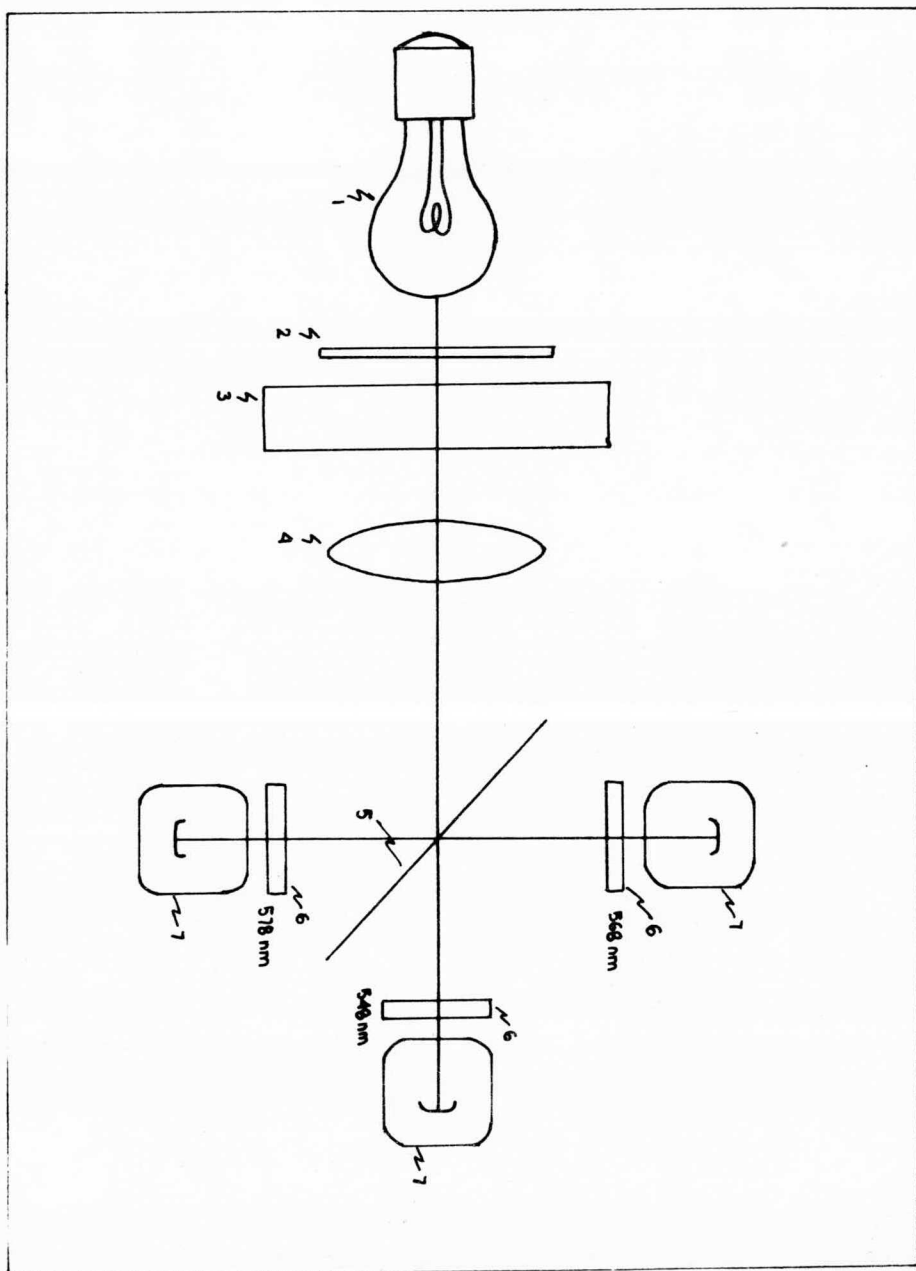


FIG. VII - EL CO-OXIMETRO. SISTEMA OPTICO: (1) LAMPARA; (2) FILTRO ABSORBEDOR DE CALOR; (3) CELDILLA; (4) LENTES; (5) DISPERSOR DE RAYOS- (6) FILTRO DE INTERFERENCIA y (7) FOTOTUBOS.

CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS

## M A T E R I A L Y M E T O D O S .

Equipo empleado.

Gasómetro IL 213-03 que consta de tres electrodos, uno de pH, otro de oxígeno y el de CO<sub>2</sub>.

## Características específicas.

Límites de trabajo:   pH           6 - 8.  
                           pCO<sub>2</sub>       000.0 - 200 mm Hg.  
                           pO<sub>2</sub>       000.0 - 200 mm Hg.

Precisión:            pH   ± 0.003  
                           pCO<sub>2</sub> ± 0.05 mm Hg.  
                           pO<sub>2</sub> ± 1.0 mm Hg en escala 200.  
   ± 10 mm Hg en escala 2000.

Voltaje de operación: 115 v ± 15 %, 60 Hz.

Muestra: 0.1 ml.

Temperatura: 5 - 45 °C.

Módulo de oxígeno IL 208-01.

Analizador de oxígeno IL 208-02.



Tonómetro IL 337.

CO-Oxímetro IL 282. (8)

Características específicas.

Límites de trabajo: Hb 6 - 17 g/100 ml. de sangre.

HbO<sub>2</sub> 0 - 100 %

HbCO 0 - 100 %

Reproducibilidad: HbO<sub>2</sub> y HbCO - 1 %

Hb - 0.1 g hB/100 ml.

Longitud de onda: 548.5 nm

568.6 nm

578.7 nm

Dilución : una parte de diluyente por nueve partes de muestra.

Voltaje de operación: 115 v (10%)

50/60 Hz.

220 v (10%), 50 Hz.

Reactivos.

1. Solución de heparina de sodio 1000 unidades por ml.
2. Solución hemolizante. Tritón-100%, 1.25% (12.6 g/l de etilfenoxidecaetanol).

3. Solución cero. Un volúmen de solución hemolizante se mezcla con siete volúmenes de agua destilada.
4. Solución limpiadora de hipoclorito de sodio que contiene aproximadamente 5.4 g de cloro por litro.
5. Solución amortiguadora para pH 6.841.
6. Solución amortiguadora para pH 7.383.
7. Solución salina isotónica.
8. Solución saturada de cloruro de potasio.
9. Agua destilada.
10. Tanque de gas que contiene 11% de CO<sub>2</sub>, 0% de O<sub>2</sub>.
11. Tanque de gas que contiene 4.31% de CO<sub>2</sub>, 19.13% de O<sub>2</sub>.
12. Tanque de gas que contiene 4.69% de CO<sub>2</sub>, 0% de O<sub>2</sub>.

#### Material biológico.

El material biológico empleado fué de 64 muestras de sangre arterial de pacientes de ambos sexos considerados como "normales." Se les practicaron los siguientes estudios: determinación de gases arteriales, fórmula roja, urea, creatinina y exámen general de orina. El objeto de hacer la determinación de urea y creatinina fué para descartar algún tipo de patología renal crónica.

### Métodos.

De los métodos revisados con anterioridad para la de terminación de la  $P_{50}$  se encontró que el espectrofotométrico fué el más adecuado. El aparato empleado que fue un CO-Oxímetro está basado en este método, es un equipo moderno de - fácil manejo con una buena reproducibilidad y sensibilidad. Este aparato hace la medición de saturación de oxígeno en - la sangre, saturación de monóxido de carbono y concentración de hemoglobina total.

La saturación de la sangre con oxígeno se llevo a ca bo en un tonómetro que tiené un proceso por medio del cuál se mezcla la sangre con un gas de tension conocida con el - propósito de cambiar la tensión de la sangre a una temperatura de  $37^{\circ}\text{C}$ . La velocidad de equilibrio es intensificada - por la segmentación del ciclo de rotación del tonómetro con breves interrupciones.

De esta manera se obtuvieron todos los parámetros necesá - rios para la elaboración de la curva de disociación de la - oxihemoglobina y la obtencion de la  $P_{50}$ .

La evaluacion estadística se llevó a cabo por medio de la T no pareada. (9)

Se utilizaron las tablas de porcentaje por puntos por distribución de "T" de E.S Person. (10)

Toma de muestra.

La muestra para medir la saturación de oxígeno debe ser arterial.

La sangre se obtiene en una jeringa de vidrio heparinizada en condiciones anaerobias. Es conveniente hacer que el anticoagulante este bien distribuído en toda la jeringa. Se deberán usar 1000 unidades de heparina de sodio, las cuáles no alteran el pH de la sangre debido a su efectividad en la prevención de agregación de plaquetas. El EDTA disódico es recomendado para el uso de rutina. (8)

Como ya se mencionó es necesario que la jeringa no lleve burbujas de aire, si las tiene habrá que sacarlas rápidamente.

Es conveniente efectuar el análisis de inmediato para evitar cambios en el contenido gaseoso de la sangre. En nuestro caso, debido a que el tiempo promedio de análisis de cada muestra fué de 50 minutos, se tuvieron que conservar en el refrigerador por un tiempo aproximado de -

dos horas.

Como la sangre total es una mezcla heterógena de células y plasma, las células se sedimentan, por esta razón es importante mezclar muy bien la muestra antes de introducirla al aparato y evitar dar resultados falsos.

#### Procedimiento.

Para llevar a cabo la saturación de la sangre con  $O_2$  se hizo pasar gas de los tanques al módulo de oxígeno de este al gasómetro y al tonómetro. El analizador de oxígeno registró las diferentes concentraciones que se necesitaron.

Se saturaron 5 ml de sangre arterial con  $O_2$  a 2,4, y 6% de  $O_2$ . La saturación se hizo en el tonómetro que permite un rápido equilibrio de la sangre con el gas minimizando así la hemólisis. El recipiente que contiene la muestra se encuentra dentro del tonómetro que posee un ciclo de agitación, hace que la sangre rote un segundo y se detenga otro, así sucesivamente durante diez minutos. Esto permitió un mayor intercambio de gases entre la sangre y

el sistema proporcionando una mejor saturación.

La concentración de  $\text{CO}_2$  fué de 30.5 mm Hg y se mantuvo constante durante todo el proceso.

Transcurridos diez minutos de agitación se hizo la lectura de pH, y  $\text{PO}_2$  en el gasómetro. La medición de la Hb,  $\% \text{HbO}_2$  y  $\% \text{HbCO}$  se hicieron en el CO-Oxímetro. Este procedimiento se repitió tres veces para obtener los tres puntos y graficarlos. Los valores de  $\text{PO}_2$  se corrigieron a un pH ideal de 7.4.

Previamente al proceso de las muestras se calibró el equipo. El gasómetro se calibró de acuerdo a la concentración de los tanques de gas, y el CO-Oxímetro con la solución cero. Además se emplearon las soluciones amortiguadoras para la calibración del pH.

CAPITULO III

RESULTADOS

## R E S U L T A D O S .

Los resultados obtenidos en este estudio se encuentran en las siguientes tablas.

El grupo de 64 personas se dividió en dos, uno de no fumadores que fué de 52 personas y otro de fumadores de 12 personas. Se les determinó el valor medio y la desviación estándar de la  $P_{50}$ ,  $\%HbO_2$  y  $\%HbCO$ .

La tabla No.1 muestra los resultados obtenidos para el grupo de no fumadores donde la  $P_{50}$  fué de  $28.55 \pm 3.03$ .

En la tabla No. 2 aparecen los resultados del grupo de fumadores. La  $P_{50}$  fué de  $27.29 \pm 3.18$ . A este grupo se le determinó también el número de cigarrillos fumados por día y se encontró que fueron  $10.66 \pm 6.27$ .

Los valores de  $P_{50}$ ,  $\%HbO_2$  y  $\%HbCO$  de fumadores y no fumadores se correlacionaron obteniendose los siguientes valores de probabilidad (P): para la  $P_{50}$  P fué menor de 0.1, para  $\%HbO_2$  P fué menor de 0.5 y para  $\%HbCO$  P también fué menor de 0.5.

En la tabla No.3 se encuentran los resultados del



grupo total. Además de los parámetros anteriores aparecen los valores promedio de hemoglobina de hombres y mujeres, encontrándose normales. La edad promedio estudiada fué de  $21.59 \pm 4.94$  años.

Los valores obtenidos de gases en sangre arterial - están en la tabla No.4 junto con sus desviaciones estándar. Estos resultados fueron normales siendo un dato muy importante para la determinación de la  $P_{50}$ .

Finalmente en la tabla No.5 están los resultados de la  $PO_2$  (corregida) y  $\%HbO_2$  a 2,4 y 6% de  $O_2$ . Se graficó el  $\%HbO_2$  contra la  $PO_2$  (corregida) a cada % de saturación de  $O_2$  y se trazó la curva en la que se interpoló el 50% de  $HbO_2$  obteniéndose así el valor de  $P_{50}$  a 2240 metros (figura VIII).

Se calculó el valor de  $P_{50}$  con  $\pm 1$  y  $\pm 2$  desviaciones estándar. (Tabla No.6)

Tabla 1.  
Grupo de no fumadores.

	X	D.E
P <sub>50</sub>	28.55	3.033
%HbO <sub>2</sub>	93.97	2.101
%HbCO	2.59	0.778

Tabla 2.  
Grupo de fumadores.

	X	D.E
P <sub>50</sub>	27.291	3.184
%HbO <sub>2</sub>	87.900	6.609
%HbCO	6.025	4.330
Cigarrillos por día.	10.66	6.271

Tabla 3.  
Grupo total.

	X	D.E
P <sub>50</sub>	28.92	3.04
%HbO <sub>2</sub>	90.935	4.35
%HbCO	2.92	1.25
Hb (H)	16.62	0.985
Hb (M)	14.57	0.992
Edad	21.59	4.94

Tabla 4.  
Gases en sangre arterial del grupo total.

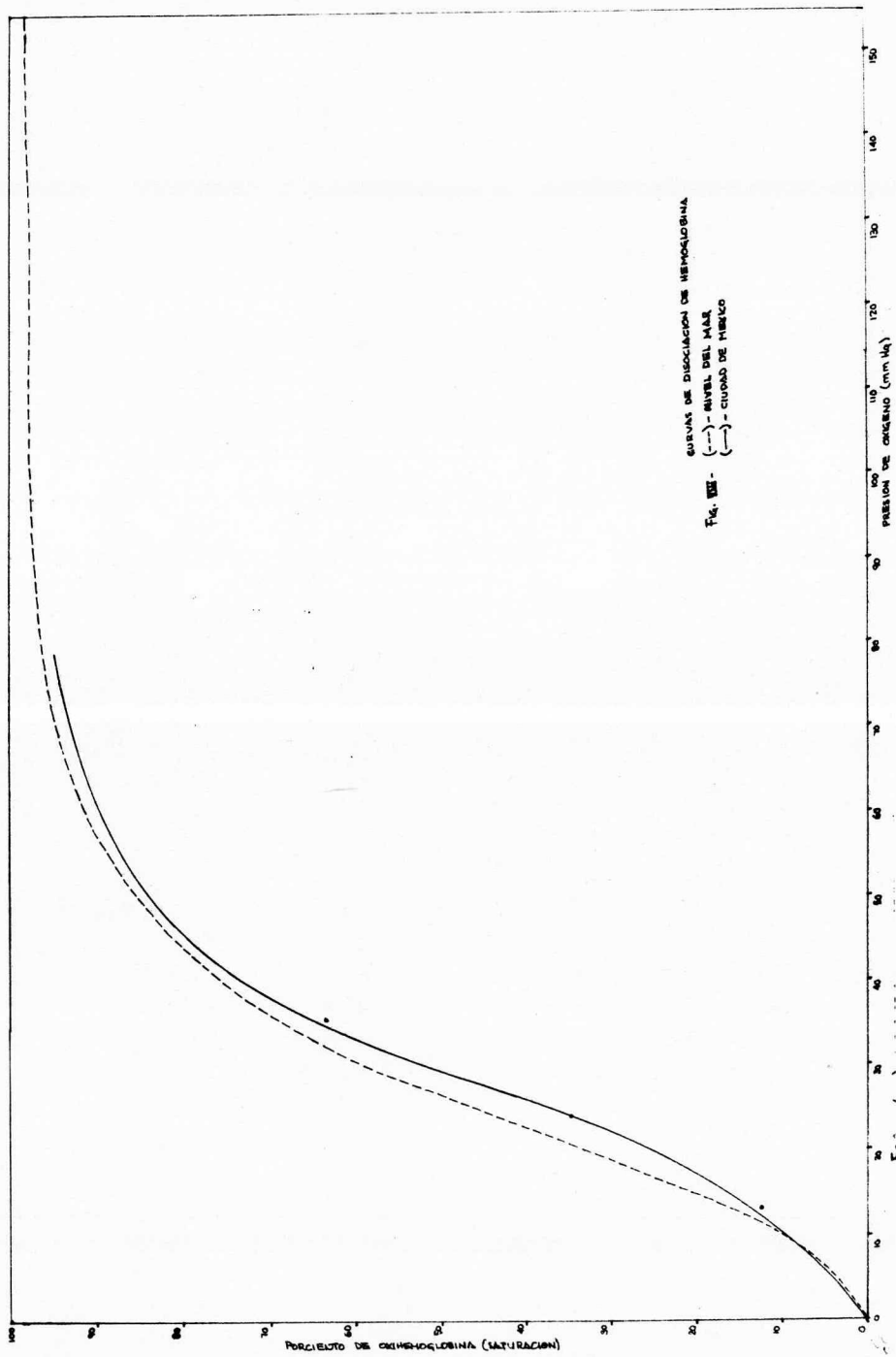
	X	X+2D.E	X-2D.E
pH	7.407	7.475	7.334
pCO <sub>2</sub>	27.854	32.780	22.928
pO <sub>2</sub>	69.250	90.352	48.147
CO <sub>2</sub> T	18.234	21.812	14.055
HCO <sub>3</sub>	17.422	19.162	15.681

Tabla 5.  
 Datos obtenidos para la elaboración de la  
 CDO.

% O <sub>2</sub>	PO <sub>2</sub> (corr.)	% HbO <sub>2</sub>
6	36.46	63.03
4	24.01	34.88
2	13.38	12.6

Tabla 6.  
 P<sub>50</sub> total y sus desviaciones estándar.

P <sub>50</sub>	X	= 28.921
	D.E	= 3.041
	X + 2σ	= 35.004
	X - 2σ	= 22.83
	X + 1σ	= 31.46
	X - 1σ	= 25.80



CAPITULO IV

D I S C U S I O N

Y

C O N C L U S I O N E S

## D I S C U S I O N .

Se encontró en los pacientes no fumadores valores - de HbCO dentro de límites normales ( 0-5% ), mientras que - los fumadores presentaron la HbCO ligeramente elevada (6%), observandose una pequeña desviación de la CDO hacia la iz - quierda, sin embargo desde el punto de vista estadístico - no fué una variación significativa ya que tuvo una P menor de 0.5. La P<sub>50</sub> de este grupo fue de 27.29 mm Hg. Los resultados obtenidos de gases arteriales estuvieron den - tro de los límites normales.

Este estudio se hizo con el fin de contribuir un po - co mas a la investigación de la P<sub>50</sub> ya que se ha visto que influye en una serie de enfermedades. La afinidad de la he - moglobina por el oxígeno puede cambiar en las enfermedades crónicas y agudas. La concentración del fosfato orgánico - 2,3 DPG se ha denominado regulador metabólico del trans - porte de oxígeno, pero no se conoce aun la relación preci - sa entre los diversos factores que parecen desencadenar la respuesta metabólica a la hipoxia, entre los que se encuen -

tra principalmente el aumento del 2,3 DPG.

La posición en la CDO varía en el enfermo grave, y no puede predecirse con base en la concentración del 2,3 DPG, el pH o el estado ácido básico del eritrocito.

Aún no se sabe bien que es lo que determina la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno en las enfermedades agudas, lo mismo que el significado fisiológico de los cambios en la curva. Por ahora sólo parece que el cambio de la curva hacia la izquierda tiene importancia cuando hay insuficiencia en el transporte de oxígeno. La conservación del paciente en estado ácido básico normal y la prevención de la hipofosfatemia deben ayudar a prevenir los cambios indeseables de la curva.

Se ha observado que en varias enfermedades de distintos orígenes cursan con alteración de la  $P_{50}$ , por lo que la cuantificación de esta es un dato de utilidad en el establecimiento del diagnóstico así como en el control de la terapéutica, basta nombrar como ejemplo los siguientes padecimientos: sangre almacenada, intoxicación por monóxido de carbono, gasto cardíaco bajo, cardiopatía congénita cianótica, anemia, cirrosis, insuficiencia respiratoria cro-



nica, hipertiroidismo, uremia, deficiencia de hexocinasa y piruvicocinasa, hipofosfatemia. (3) .Anestesia prolongada - (3,11), alteraciones causadas por la administracion de insulina en el paciente diabetico con cetoacidosis (12,13, - 14) pancreatitis asociada a hiperlipoproteinemia I y IV (- (15), en hemoglobinas anormales (3) y en hipoxia cronica - (3,16).

## C O N C L U S I O N E S .

Los resultados obtenidos demuestran que la  $P_{50}$  encontrada al nivel del mar (26,52 mm Hg) difiere de la encontrada a 2,240 metros sobre el nivel del mar, que fue de 28.92 mm Hg, por lo que podemos deducir que la altitud afecta la CDO desviandola hacia la derecha. Es importante tomar en cuenta este dato como valor de referencia al hacer la determinación en pacientes de la ciudad de México.

Es posible que el valor de la  $P_{50}$  esté afectado también por la contaminación ambiental existente en la ciudad de México ya que las concentraciones de  $CO_2$  modifican la CDO.

Es importante que se sigan haciendo estudios sobre la  $P_{50}$  para poder establecer con mayor rapidez diagnósticos de enfermedades en las que se puede encontrar alterada, así como también el poder prevenir posibles reacciones del paciente a algunos medicamentos como por ejemplo, en el caso de la anestesia.

R E S U M E N

## R E S U M E N .

La curva de disociación de oxihemoglobina es una expresión de la reacción del oxígeno con la hemoglobina en términos del porcentaje de saturación de la última, frente a la  $PO_2$ . Se ha visto que algunos eventos moleculares son causa de la afinidad cambiante de la hemoglobina por el oxigeno durante la oxigenación así como de la forma sigmoide de la CDO. Además de la forma, la posición de la CDO es también indicadora de la afinidad de la hemoglobina por el oxigeno.

Existen varios factores que influyen en la CDO como son: la temperatura, cuando esta aumenta también aumenta la  $P_{50}$  y viceversa; el efecto Bhor, cuando el pH aumenta la  $P_{50}$  disminuye; el 2,3 DPG cuando aumenta, disminuye la  $P_{50}$ , el ATP tiene el mismo efecto pero en menor cantidad; los iones de hidrógeno, aniones orgánicos,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{--}$ , y fosfatos orgánicos desvían la CDO hacia la derecha.

El método empleado para la determinación de la  $P_{50}$  fue el espectrofotométrico obteniéndose los valores de  $P_{50}$

de un grupo de 64 personas ( fumadores y no fumadores ). El valor promedio fué de 28.92 mm Hg. Se encontró una diferencia de 1.26 mm Hg para los valores de  $P_{50}$  de fumadores y no fumadores.

Se demostró que existe diferencia entre los valores de  $P_{50}$  correspondientes a personas que viven al nivel del mar y aquellas que se encuentran en la ciudad de México en quienes la posición de la curva está ligeramente desviada a la derecha como consecuencia de la altitud.

BIBLIOGRAFIA

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

1. Fallon, K.D., Malenfant, A.L., Weisel, R.D. P<sub>50</sub> determinations: techniques and clinical importance. Oxygen - transport to tissue. Ed. Haim I. Becker. N.Y. p.93-97.
2. De la Hueraga, J., Sherrick, J. Measurement of oxygen saturation of the blood. Annals of Clinical Laboratory - Science. 1, No.3, p.261-271, 1971.
3. McConn, Rita. Curva de disociación de hemoglobina en las enfermedades agudas. Rev. Clinicas quirurgicas de Norteamérica. Ed. Interamericana. p.628-658, 1975.
4. Williams, J.W. Hematología. Cap. 13. Funciones de transporte del eritrocito. 1. Ed. Salvat. p.147-153, 1975.
5. Butler, J.A.V., Noble, D. Structure and function of hemoglobine. Progress in Biophysics and Molecular Biology Ed. Pergamon Press. Oxford. 29 . p.227-319.
6. Shappell, Stephen D., Lefant, J.M. Adaptive genetic, - and iatrogenic alterations of the oxyhemoglobin-dissociation curve. Anesthesiology. 37. No.2. p.127-139, 1972

7. Dubowski, K.M., Luke, J.L. Measurement of carboxyhemoglobin and carbon monoxide in blood. *Annals of Clinical Laboratory Science*. 3, No.1, p. 53-65, 1973.
8. Instructions IL 182 CO-Oximeter. Instrumentation Laboratory, Lexington Mass. 1973.
9. Brownler, K.A. Statistical theory and methodology in Science and engineering. Ed. Jhon Winley, 1965.
10. Pearson, E.S. *Biometrics*. 1 p.146.
11. Geysant, A., Vignon, H., Houguet, J. Changes in the affinity of oxygen for hemoglobin during general anesthesia. *Ann. Anesthesiol. FR* 18(10): 791-5, 1977.
12. Ditzel, J. The problems of tissue oxygenation in Diabetes Mellitus. *Acta. Med. Scand. Suppl.* 578:69-83, 1975.
13. Ditzel, J., Jaeger, P., Standl, E, An adverse effect of insulin on the oxygen-release capacity of red blood cells in nonacidotic diabetics metabolism. 27: 927-34, 1978
14. Ditzel, J., Stand, E. The problem of tissue oxygenation in Diabetes Mellitus. *Acta. Med. Scand. Suppl.* 578: 59-68, 1975.
15. Ditzel, J. Increased hemoglobin oxygen affinity in patients with pancreatitis associated with type I and



- hyperlipoproteinemia. Adv. Exp. Med. Biol. 94: 473-8, 1977.
16. Brsaux, E. Affinity of hemoglobin for oxygen and tolerance to hipoxia. Poumon Coeur 31: 183-6, 1975.