

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Patología Medica



TESIS DOCTORAL

Estudio del 2,3 - difosfoglicerato intraeritrocetario, con especial referencia a su papel modulador en el transporte de oxígeno en algunas situaciones clínicas

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

José Luis Álvarez-Sala Walther

Madrid, 2015

TE 612.014.464
o A IV.

A. 19.128 José Luis Alvarez-Sala Walther

BIBLIOTECA UCM



5301456248

ESTUDIO DEL 2,3 - DIFOSFOGLICERATO INTRABRITROCITARIO,
CON ESPECIAL REFERENCIA A SU PAPEL MODULADOR EN EL TRANSPORTE
DE OXIGENO EN ALGUNAS SITUACIONES CLINICAS

Departamento de Patología Médica
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1981



Biblioteca
de Medicina

x-53-011284-0

© José Luis Alvarez-Sala Walther
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-13979-1981

612.014.464
ALV

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

ESTUDIO DEL 2,3-DIFOSFOGLICERATO INTRAERITROCITARIO,
CON ESPECIAL REFERENCIA A SU PAPEL MODULADOR
EN EL TRANSPORTE DE OXIGENO
EN ALGUNAS SITUACIONES CLINICAS

José Luis ALVAREZ-SALA WALTHER

FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

HOSPITAL CLINICO DE SAN CARLOS

Cátedra de Patología y Clínica Médica II (Profesor D. Espinós Pérez).

Estudio del 2,3-difosfoglicerato intraeritrocitario, con especial referencia a su papel modulador en el transporte de oxígeno en algunas situaciones clínicas.

Tesis presentada para la obtención del Grado de Doctor en Medicina y Cirugía por José Luis Alvarez-Sala Walther.

**Dirigida por el Profesor Dr. D. Domingo Espinós Pérez,
Catedrático de Patología y Clínica Médica.**

Madrid, septiembre de 1980

D. DOMINGO ESPINOS PEREZ, Catedrático de Patología y Clínica Médica II de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid

CERTIFICO: que D. José Luis Alvarez-Sala Walther ha realizado bajo mi dirección el trabajo de investigación correspondiente a su Tesis Doctoral titulado ESTUDIO DEL 2,3-DIFOSFOGLICERATO INTRAERITROCITARIO, CON ESPECIAL REFERENCIA A SU PAPEL MODULADOR EN EL TRANSPORTE DE OXIGENO EN ALGUNAS SITUACIONES CLINICAS.

Creemos que el mencionado trabajo reúne las condiciones necesarias para obtener el grado de Doctor, por lo que una vez revisado damos nuestra conformidad para su presentación a tal fin.

Para que conste y a instancias del interesado firmo el presente certificado en Madrid a veinticuatro de mayo de mil novecientos ochenta.



A mi padre

Agradecimientos

- Al profesor D. Espinós Pérez —director de esta Tesis Doctoral—, cuyo ejemplo, desde que por primera vez en cuarto curso de carrera le escuché una lección magistral, ha sido un constante estímulo de superación. Su ilusión por saber y su capacidad de estudio me han impresionado desde entonces.
- A la doctora M. A. Urbán Poza, claro exponente del difícil equilibrio entre el clínico y el teórico, que suplió con su trabajo mis obligadas ausencias.
- A las doctoras A. Villegas Martínez y A. Escribá Polo, que facilitaron en gran manera mi labor en el laboratorio de Hematología.
- Al doctor J. M. Sánchez Varela, de quien aprendí los fundamentos de la técnica.
- A las doctoras M. Pérez García y M. P. Soler Marín y a la señorita Tita Mateos Granados, gracias a cuya eficaz y desinteresada colaboración me ha sido posible ultimar algunos detalles de este volumen.
- Al doctor R. Serrano Heranz, que efectuó las determinaciones de lactato en sangre en algunos de los casos.
- A los médicos de la Cátedra de Patología Médica II, que no dudaron en permitirme el estudio de sus enfermos.

INDICE

Justificación del trabajo	8
Revisión bibliográfica	11
A. Introducción	12
B. La hemoglobina y el transporte de oxígeno	17
I. La hemoglobina: su estructura y su función	17
II. La relación de la hemoglobina con el oxígeno: la curva de disociación de la hemoglobina	28
III. La fisiología del transporte de oxígeno	42
C. El metabolismo glicídico en el hematíe	49
I. Generalidades	49
II. La glicolisis anaerobia: sus enzimas y su regulación	49
III. Otras rutas metabólicas: la derivación de las pentosas, la vía de la galactosa, el metabolismo de las purinas y del glutatión	56
IV. Importancia del ATP y del sistema NAD/NADH	59
D. Estudio general del 2,3-difosfoglicerato Intraeritrocitario	62
I. Recuerdo histórico	62
II. El metabolismo del 2,3-DPG en el hematíe	63
III. Las diversas funciones del 2,3-DPG eritrocitario	70
IV. Mención especial a la función respiratoria del 2,3-DPG	72
V. Métodos de dosificación del 2,3-DPG Intraeritrocitario	81

VI. Valores normales y variaciones fisiológicas del 2,3-DPG eritrocítico	82
E. El 2,3-difosfoglicerato del hematíe en algunas situaciones clínicas	86
I. El 2,3-DPG en situaciones de hipoxia	86
II. El 2,3-DPG en las hemoglobinopatías y en las enzimopatías glicolíticas eritrocitarias	96
III. El 2,3-DPG en la diabetes mellitus y en otros trastornos endocrinos y metabólicos	101
IV. El 2,3-DPG en la insuficiencia renal crónica	104
V. El 2,3-DPG en las enfermedades tiroideas	106
VI. El 2,3-DPG en la cirrosis hepática	110
VII. El 2,3-DPG y la sangre conservada	117
VIII. El 2,3-DPG en otras situaciones	122
Material y métodos	124
A. Enfermos estudiados	125
B. Protocolo de recogida de datos	129
C. Métodos empleados	130
D. Material utilizado	138
E. Cálculo estadístico	139
Resultados	142
A. Control de calidad del método	143
B. Sujetos sanos	144
C. Anemias de diverso origen	153
D. Enfermedades tiroideas	153
E. Cirrosis hepáticas	176
F. Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	190
G. Insuficiencias renales crónicas	197
H. La relación entre la hemoglobina y el 2,3-DPG en el conjunto de los enfermos estudiados	210
Discusión y comentarios	212
A. Del método empleado	213
B. De los resultados obtenidos	217
I. Sujetos sanos	217
II. Anemias de diverso origen	222
III. Enfermedades tiroideas	224

IV. Cirrosis hepáticas	232
V. Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	237
VI. Insuficiencias renales crónicas	241
Conclusiones	247
Bibliografía	250
Clave de abreviaturas más utilizadas	263

JUSTIFICACION DEL TRABAJO

JUSTIFICACION DEL TRABAJO

El oxígeno forma parte esencial del proceso metabólico a través del cual el organismo obtiene la mayor parte de la energía necesaria para que las reacciones biológicas se desarrollen de forma óptima. En la compleja fisiología del transporte de oxígeno toman parte muchos y muy distintos factores, que se integran con la finalidad de conseguir que la oxigenación de los tejidos se lleve a cabo adecuadamente. Es posible identificar, quizás de manera un tanto esquemática, cuatro grandes grupos de sistemas de los que, en definitiva, depende la homeostasis del transporte de oxígeno: el respiratorio, el cardiocirculatorio, el hematopoyético y el propiamente eritrocitario; este último está constituido por el conjunto de factores que intervienen en la regulación de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno.

Cualquiera de los cuatro sistemas mencionados es capaz de neutralizar, hasta un cierto límite, la deficiencia en la función de los otros, con la peculiaridad de que algunos proporcionan una adaptación inmediata al defecto, mientras que otros son de más lenta instauración. Los cuatro sistemas, además, están orientados para actuar como mecanismos no sólo de sustitución, como acabamos de comentar, sino también de compensación, en todas aquellas situaciones clínicas que cursan con hipoxia celular.

La facilidad con la que la hemoglobina puede desprenderse del oxígeno para cederlo a los tejidos es una característica que tiene su origen, por una parte, en las propiedades intrínsecas de la molécula del tetrámero, que generalmente son de naturaleza congénita, y por otra parte, en la composición del medio ambiente en el que está inmersa. Diversos factores intervienen en la relación entre el oxígeno y la hemoglobina. La mayoría de ellos —el pH, el anhídrido carbónico, la temperatura— son conocidos desde hace mucho tiempo y han sido objeto de amplios y profundos estudios. En los últimos años se ha descubierto un nuevo factor, el 2,3-difosfoglicerato, cuya importancia en la regulación de la afinidad del pigmento respiratorio por el oxígeno ha resultado ser de un enorme relieve y cuya trascendencia, tanto en el campo de la Fisiología como en el de la Patología o de la Clínica, empieza ahora tan sólo a vislumbrarse. En efecto, el 2,3-difosfoglicerato es un metabolito intermediario de la glicolisis anaerobia, que se encuentra a concentraciones casi equimolares con la hemoglobina en el hematía y cuya existencia, aunque ya conocida desde hace más de 50 años, no ha sabido interpretarse correctamente hasta 1967, año en el que dos grupos independientes de trabajo dieron la clave de su importantísima "función respiratoria". El 2,3-difosfoglicerato es un efector alostérico de la hemoglobina, de tal forma, que en su interacción con ella estabiliza su configuración desoxigenada. El eritrocito consigue así, a través de variaciones en la concentración del fosfoderivado, modular su afinidad por el oxígeno.

El descubrimiento de esta "función respiratoria" del 2,3-difosfoglicerato ha abierto una nueva línea de investigación en el complejo campo de la fisiología del transporte de oxígeno. En este sentido, nosotros hemos pretendido, al continuar los trabajos iniciados años atrás por el grupo que dirige el profesor Espinós Pérez, establecer cuál es el comportamiento de este fosfato orgánico, cuantitativamente el más importante del hematíe, en algunas situaciones clínicas en las que prácticamente no ha sido aún estudiado. Era lógico pensar que en la anemia crónica debía de existir una elevación en la concentración intraeritrocitaria del 2,3-difosfoglicerato, que al facilitar la liberación del oxígeno a los tejidos actuaría como un mecanismo más de adaptación del organismo a la deficiencia de masa eritrocítica; este mecanismo se integraría en la compleja homeostasis del transporte del gas respiratorio. Esta hipótesis fue demostrada en los iniciales estudios del grupo que dirige el profesor Espinós. Nosotros hemos querido dar, con nuestro trabajo, un paso más allá: hemos intentado no solamente determinar cuál es la concentración intracorpúscular del 2,3-difosfoglicerato, para establecer su correlación con la tasa de hemoglobina, en ésta y en otras situaciones clínicas más complejas —enfermedades tiroideas, cirrosis hepática, bronconeumopatía crónica obstructiva, insuficiencia renal crónica severa—, sino también, y principalmente, comprobar cuál es el comportamiento de este fosfato orgánico cuando a las alteraciones en la masa eritrocítica, que suelen acompañar a estos procesos, se unen otros trastornos a los que, también, las enfermedades antes citadas se asocian con cierta frecuencia. Es decir, hemos querido profundizar en el estudio de algunos aspectos, que creemos poco conocidos, de la fisiopatología del transporte de oxígeno, con especial referencia al papel que el 2,3-difosfoglicerato pueda tener en ella, al integrarse con el resto de los factores que modulan la afinidad de la hemoglobina por el gas respiratorio. Para esto, como declmos, hemos elegido algunas situaciones clínicas que por su complejidad, consecuencia de la habitual aparición en ellas de múltiples posibles trastornos —tales como la acidosis o la alcalosis, la hipoxemia, la hiper o la hipofosfatemia, las variaciones en el consumo periférico de oxígeno y, ni que decir tiene, la anemia— pueden permitirnos una mejor comprensión de cómo se regula esta afinidad por el oxígeno. Efectivamente, los mencionados trastornos, en unas ocasiones directamente y en otras de forma indirecta, a través del 2,3-difosfoglicerato, intervienen en la modulación de las propiedades "respiratorias" de la hemoglobina. Pretendemos así esclarecer un aspecto poco conocido dentro del amplio campo de la fisiología del transporte de oxígeno. Con este propósito iniciamos nuestro estudio. Los resultados a los que hemos llegado son los que expondremos a continuación en este trabajo, que desde su comienzo fue proyectado para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

REVISION BIBLIOGRAFICA

- A. Introducción**
- B. La hemoglobina y el transporte de oxígeno**
- C. El metabolismo glicídico en el hematíe**
- D. Estudio general del 2,3-difosfoglicerato intraeritrocitario**
- E. El 2,3-difosfoglicerato del hematíe en algunas situaciones clínica:**

A. INTRODUCCION

El hallazgo del glóbulo rojo de la sangre en el siglo XVII inició una era de descubrimientos científicos que han abocado a un crecimiento geométrico de nuestros conocimientos desde entonces hasta el momento actual. La inicial observación del eritrocito embarcó al hombre en un viaje intelectual, que le ha llevado a descubrir nuevos e insospechados horizontes, siempre crecientes, de investigación. Los grandes logros conseguidos se han manifestado tanto en el terreno científico puro de la Biología como en el de las Ciencias Aplicadas como la Medicina.

El glóbulo rojo existe primariamente para el transporte de los gases respiratorios. Su función en los vertebrados es la de hacer posible a las células de los tejidos, lejos del aire atmosférico, respirar oxígeno y eliminar anhídrido carbónico. Aunque algo de oxígeno es transportado en solución por el plasma, la cantidad es mínima comparada con la que es acarreada por el hematíe (143, 243). La apreciación de esta "función respiratoria" de la sangre fue conseguida hace ya más de dos siglos. Parece ser que la primera observación de que la sangre contenía "aire" fue realizada a finales del siglo XVII por Boyle, pero fue sólo dos siglos después cuando el papel de la hemoglobina como transportador de oxígeno fue definitivamente reconocido (211).

La célula roja nucleada en desarrollo contiene todos los elementos subcelulares necesarios y el aparato bioquímico y sistemas enzimáticos suficientes para su replicación, maduración y diferenciación. Es capaz de la síntesis de los tres principios inmediatos, aunque la producción de los 400 millones de moléculas de hemoglobina que forman el 95 % de su peso seco (104) y que son imprescindibles para el transporte de oxígeno, constituye lógicamente su máximo esfuerzo; el producir un pigmento respiratorio capaz de aceptar, transportar y liberar oxígeno y finalmente el proporcionarle un medio ambiente adecuado, donde este pigmento pueda mantenerse en estado funcional, es la misión principal de las células eritropoyéticas (104). A medida que progresa la diferenciación, la célula roja pierde su capacidad de síntesis de DNA (y por tanto de replicación) y comienza lo que será su senescencia. Después pierde el núcleo y luego el RNA (y por ello la posibilidad de síntesis proteica y formación de hemoglobina). El hematíe maduro probablemente, tampoco puede sintetizar lípidos ni fosfolípidos. Finalmente, el ciclo de Krebs deja de ser funcional. Sólo se conserva la vía de la glicolisis anaerobia, la derivación de las pentosas y quizás la glicogenogénesis (104). El eritrocito adulto maduro, así organizado, sacrifica en beneficio de su función primaria, el transporte de oxígeno, la habilidad para realizar otras muchas funciones, que no harían sino entorpecer éste su propósito esencial. Por ello, parece claro que, junto a algunos sistemas metabólicos que existen en el hematíe al objeto de sufragar sus propias necesidades, co-

mo por ejemplo las energéticas para su supervivencia, el resto, por el contrario, no benefician directamente al hematíe, al menos como primer objetivo, sino que su principal función favorece al organismo en su conjunto. Tal es el caso del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) en su relación con el transporte de oxígeno, como más adelante comprobaremos. Esta diversidad de funciones hacen al metabolismo del hematíe considerablemente más complejo e interesante de lo que pudiera juzgarse por el hecho de su carencia de núcleo y de gran número de rutas metabólicas.

Visto así, puede decirse que el eritrocito es único entre las unidades biológicas, ya que la mayor parte de su energía no se emplea directamente en el transporte del gas por la hemoglobina, que es una función pasiva del pigmento y no requiere consumo de ella. Por el contrario, esta energía se utiliza en mantener a la célula en un estado funcional adecuado, de tal forma que pueda desarrollar su actividad "pasiva" apropiadamente (104).

En este sentido la filogenia es orientadora. La transición evolutiva desde la molécula de pigmento respiratorio circulante en la sangre de forma libre a su englobamiento en elementos formes individualizados fue sin duda un útil artificio para la búsqueda de mayores ventajas metabólicas. Sería difícil, si no imposible, el utilizar adecuadamente las secuencias metabólicas si éstas tuvieran lugar en el plasma, donde difundirían rápidamente los cofactores y los sustratos ricos en energía. Por otra parte, no existiría el beneficioso efecto de este metabolismo sobre la función respiratoria del pigmento. Su inclusión en una célula le permite participar de todas las ventajas del metabolismo celular, como pueden ser su protección contra la degradación oxidativa (glutacion y sistema reductor de la methemoglobina) o la modulación en el transporte de oxígeno por variaciones en su afinidad por el gas. Además, el englobar a la hemoglobina dentro de las hematíes ofrece diversas ventajas en el intercambio de gases a nivel capilar, entre otras el que se instaure un flujo turbulento, más ventajoso que el laminar a estos efectos. En el pasado además se creía que la hemoglobina se mantenía en elementos corpusculares porque si el pigmento estuviera libre en solución de 15 gramos por cien, la viscosidad del plasma aumentaría enormemente, lo que impediría una circulación efectiva. Posteriormente se ha comprobado, sin embargo, que esto no es así: una solución de hemoglobina a la misma concentración que la de la sangre tiene menor viscosidad que la de los eritrocitos suspendidos en el mismo medio (104,211). En conjunto puede afirmarse que al disponerse intracelularmente la hemoglobina se libera del influjo metabólico general y evita su rápida degradación. Baste a este efecto recordar que la vida media de la hemoglobina circulante en el plasma es de 200 minutos en oposición a los 120 días de la hemoglobina intracorporal (104).

Los glóbulos rojos de las especies diferentes a los mamíferos son usualmente nucleados y tienen un metabolismo muy activo (40). Parece como si la evolución se dirigiera hacia hematíes con una actividad metabólica cada vez menor, pero mucho más orientada hacia la colaboración con el transporte de los gases respiratorios. Este transporte es su misión principal y por ello la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno debe de ser finamente regulada. Con este propósito las especies

más evolucionadas han adoptado diferentes procedimientos. Como veremos, algunos mamíferos, incluido el hombre, han desarrollado altos niveles de un intermediario glicolítico, el 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) que modula, al actuar como un efector alostérico, la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (28, 40, 46, 250). Otras especies de mamíferos, como la oveja y la cabra, han desarrollado hemoglobinas con una afinidad por el oxígeno que es la apropiada a sus necesidades metabólicas y que no precisan modulación. Finalmente, las aves tienen también un modulador metabólico de esta afinidad, pero diferente al de los mamíferos, que es el inositol-hexafosfato (28, 40). Cabe pues afirmar que si durante muchos años la estructura y la función del hematíe han sido consideradas de una forma elemental al pensar que éste era simplemente un elemento forme, discoide y bicóncavo, no nucleado, con una gran concentración de hemoglobina en su interior y que durante sus 120 días de vida y más de 250 kilómetros de recorrido se encargaba tan sólo de transportar el oxígeno a los tejidos, no ha sido sino en los últimos veinte años cuando se ha comenzado a intuir su compleja ultraestructura y los mecanismos dinámicos que hacen que se le pueda considerar como una unidad funcional (44, 104). Es sin duda en este campo, que pone en relación el metabolismo y la función del hematíe, en el que más se ha investigado y en el que el estudio del eritrocito ha progresado más. Ello ha sido debido al descubrimiento del esencial papel que, como regulador de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, tiene el 2,3-DPG, intermediario glicolítico ya varias veces mencionado.

La presencia de tasas elevadas de 2,3-DPG en los hematíes de ciertas especies animales, como el cerdo, fue ya inicialmente señalada en 1925 por Greenwald (101). Posteriormente, entre 1939 y 1941, este hallazgo fue definitivamente confirmado en el hombre y otras especies animales por Rapoport y Guest (177, 178), al comprobarse que el 2,3-DPG se encuentra en concentraciones casi equimolares con la hemoglobina dentro del hematíe. Diez años más tarde, Rapoport y Lübering (179, 180) se encargaron de investigar los sistemas enzimáticos responsables de su síntesis y de su degradación. Si pensamos que ya en 1921 Barcroft decía, al comentar la diferencia en la afinidad por el oxígeno existente entre la hemoglobina purificada en solución y la hemoglobina dentro del hematíe, que "hay una tercera sustancia presente, independientemente de la hemoglobina y del oxígeno, que forma parte integral de este complejo" (28, 29, 202), resulta sorprendente que el fosfato orgánico eritrocitario 2,3-DPG y el transporte de oxígeno por el glóbulo rojo no se pusieran en relación hasta 1967, año en el que Benesch y Benesch (27), y Chanutin y Curnish (52), simultánea, pero independientemente, descubrieran la influencia que el 2,3-DPG ejerce sobre la función respiratoria de la hemoglobina al modificar la posición de su curva de disociación con el oxígeno. Estos investigadores comprobaron cómo al añadir 2,3-DPG a la hemoglobina en una solución "in vitro" se producía un desplazamiento a la derecha en esta curva, proporcional al 2,3-DPG añadido, de tal forma que a concentraciones iguales a las "intracorporales" de 2,3-DPG, la hemoglobina se comportaba, con respecto a su afinidad por el oxígeno, como si estuviera en el hematíe. Esta diferencia de comportamiento es esencial para la vida, ya que permite al eritrocito

liberar oxígeno en los capilares tisulares a una presión parcial de oxígeno (pO_2) relativamente alta (28, 44). El tiempo transcurrido desde 1967 ha conocido el desarrollo de un capítulo nuevo y excitante en la historia de la fisiología del glóbulo rojo: la interdependencia entre su metabolismo y su función transportadora de oxígeno (26, 28, 42, 44, 75, 173). En la actualidad el enorme esfuerzo investigador que se realiza en diferentes áreas de este campo ha puesto de manifiesto cómo a través de variaciones en las concentraciones intracorporales del 2,3-DPG el metabolismo del hematíe humano ayuda a mantener la homeostasis respiratoria (42), tanto en el sujeto sano como en pacientes afectados de enfermedades diversas (26, 28, 42, 75). De esta forma se ha comprobado cómo una modulación metabólica tan sutil, que sólo requiere el acúmulo progresivo de un intermediario glicolítico normal del hematíe, consigue modificar de forma importante la cantidad de oxígeno liberada a los tejidos, sin ninguno de los conocidos efectos colaterales que normalmente acompañan a los ajustes de otra naturaleza, por ejemplo los del pH sanguíneo (75). La vieja experiencia clínica de que anemias agudas con descenso de un 30 % en la tasa de hemoglobina conllevan severas reacciones hipóxicas y reajustes cardiocirculatorios, mientras que anemias de instauración lenta de hasta un 50 % se toleran bien, encuentra ahora una de sus explicaciones en el lento mecanismo de adaptación del 2,3-DPG (125). El interés por el metabolismo del hematíe, y más concretamente por el 2,3-DPG, se ha acentuado aún más si cabe ante la posibilidad reconocida en los últimos años de su manipulación con fines terapéuticos. Si tasas elevadas del organofosfato hacen que la hemoglobina tenga una menor afinidad por el oxígeno no resulta sorprendente que se hayan ensayado diversas sustancias (piruvato, fosfato, inosina, dihidroxiacetona, etc.), en un intento de elevar su concentración en el hematíe en diversas situaciones de hipoxia (altitud, enfermedades pulmonares, cardiopatías isquémicas, etc.), al objeto de mejorar la oferta de oxígeno a los tejidos (25, 41, 42, 44, 142, 228). Ello nos sugiere que la utilidad del conocimiento del metabolismo del hematíe va mucho más allá de los confines de la Hematología (25).

Sin embargo, el 2,3-DPG no es el único compuesto fosforilado que influye sobre la función respiratoria de la hemoglobina. Otros intermediarios metabólicos, como el adenosintrifosfato (ATP), disminuyen esta afinidad por el oxígeno. Pero, indudablemente, desde el punto de vista cuantitativo, el 2,3-DPG es el más importante (28, 41, 48). El por qué existen en las diferentes especies animales moduladores en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno diferentes al ATP ha permitido especular y pensar que esto haya sido la consecuencia del desarrollo en el eritrocito de un mecanismo protector contra la malaria, similar al de la hemoglobina S y a la deficiencia en glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Parece ser que, de alguna manera no del todo conocida, los niveles bajos de ATP protegerían contra la infestación palúdica. Por ello, durante la evolución, el ATP fue desechado como modulador del pigmento respiratorio, ya que se hubiera necesitado que estuviese en grandes proporciones en el hematíe, lo que hubiese favorecido el desarrollo de la enfermedad palúdica. En el curso de la filogenia dos tipos de sustancias aparecieron para sustituir al ATP: en las aves el inositol-hexafosfato y en los mamíferos el 2,3-DPG. La producción de este

último en la glicolisis eritrocitaria, como más adelante comentaremos, evita la formación de ATP por la fosfogliceratoquinasa (PGK). El 2,3-DPG, por sí mismo, no es útil al parásito, ya que no contiene enlaces fosfato de alta energía. Puede especularse, pues, que en el pasado los hematíes modulaban su afinidad por el oxígeno mediante el ATP; pero la aparición del plasmodium hizo surgir estas dos nuevas modalidades evolutivas. De esta manera, la selección favoreció el desarrollo de células que regulaban su afinidad por el oxígeno con moléculas sin utilidad para éste u otros parásitos similares.

El estudio de este modulador alostérico de la afinidad de la hemoglobina humana por el oxígeno, del 2,3-DPG, es, como ya hemos dicho, el objetivo de esta Tesis Doctoral. Su caracterización en algunos procesos clínicos en los que ha sido muy poco investigado (cirrosis hepática, enfermedades tiroideas, insuficiencia renal crónica y enfermedad pulmonar obstructiva crónica) será el capítulo al que dedicaremos atención preferente y sobre el que recaerá la mayor parte de nuestra aportación. Definir en estos procesos cuál es su situación e importancia real y cuáles son los elementos que influyen sobre su concentración eritrocitaria y por tanto, al compararlos con la población española normal, intentar establecer de qué factores depende su regulación en el hematíe, serán objetivos también prioritarios del presente estudio.

Para ello creemos que quizá sea conveniente comentar previamente y de forma breve algunos aspectos de la estructura de la hemoglobina humana (con la que va a interactuar el 2,3-DPG), de la fisiología del transporte de oxígeno a los tejidos (para comprender a qué nivel ejerce su efecto el 2,3-DPG y de qué manera se acopla con otros sistemas de compensación de la hipoxia, cuando este transporte se altera), de la relación de la hemoglobina con el oxígeno (la curva de disociación de la hemoglobina, sobre la que va a actuar el 2,3-DPG), para, a continuación, analizar el metabolismo normal de los carbohidratos en el hematíe (dónde se va a producir y a regular el 2,3-DPG). Revisaremos las diversas funciones del 2,3-DPG en el eritrocito y la base estructural de su interacción con la hemoglobina para, finalmente, referir los datos más importantes conocidos hasta el momento actual sobre los estudios que se han llevado a cabo sobre el 2,3-DPG en algunas situaciones clínicas que han sido objeto de mayor atención por los investigadores que las elegidas por nosotros.

B. LA HEMOGLOBINA Y EL TRANSPORTE DE OXIGENO

I. La hemoglobina: su estructura y su función

1. La estructura de la hemoglobina (4, 9, 12, 29, 46, 94, 99, 104, 113, 154, 225, 255)

El aspecto externo de la molécula de hemoglobina es aproximadamente esférico, con unas dimensiones de 64 x 55 x 50 Å. Su peso molecular total es de 64.458 daltons del que el 97 % corresponde al peso de la globina, la parte proteica de la molécula. En efecto, la hemoglobina de los mamíferos es una estructura tetramérica constituida por dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas —que forman la globina o grupo proteico—, cada una de las cuales se une a un grupo heme o grupo prostético, formado a su vez, por un átomo de hierro y una protoporfirina IX.

Estos cuatro grupos heme están localizados, según han demostrado los estudios con difracción de rayos X, en pequeñas depresiones en cada una de las cuatro cadenas polipeptídicas. El átomo de hierro ocupa la posición central en el plano del anillo de la porfirina y es hexacovalente, es decir, se puede unir a seis átomos o grupos de átomos distintos. Por medio de cuatro de estos enlaces el hierro está coordinado en un mismo plano con los cuatro átomos de nitrógeno no protonados de los anillos pirrólicos de la protoporfirina. Las otras dos posiciones del hierro son perpendiculares al plano de la protoporfirina. Efectivamente, la quinta unión se realiza, a través de un imidazol, a un residuo de histidina de la cadena polipeptídica correspondiente. Finalmente, la sexta valencia es la que se reserva para la unión con el oxígeno. En la oxihemoglobina el oxígeno se une también, de forma laxa, a otra histidina ($\alpha 58$ o $\beta 63$, como veremos).

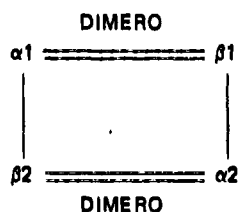
Diversas evidencias de índole biofísica y bioquímica han establecido de forma concluyente que la globina normal es una proteína constituida por 574 aminoácidos, formada a expensas de sólo 17 diferentes y cuyo peso molecular es de 61.992 daltons. Estos aminoácidos se integran en dos tipos de cadenas de péptidos distintas, que organizadas en el espacio de forma específica se presentan, como ya hemos dicho, en pares iguales, dos a dos. De esta manera, cuando cada cadena se combina con su grupo heme, la molécula total de la hemoglobina posee un eje de simetría y está formada por dos mitades idénticas llamadas dímeros.

La importancia de la hemoglobina en el metabolismo general de nuestra economía es evidente. Baste recordar que, en condiciones normales, se sintetizan 8 gramos diarios de esta proteína, lo que representa un 14 % de la ingesta proteica diaria, y que con sólo pequeñas modificaciones en su estructura se pueden originar graves enfermedades.

Cada uno de los dos tipos de cadenas polipeptídicas diferentes que entran a formar parte de la

hemoglobina normal y mayoritaria del adulto han sido designadas de forma arbitraria como cadenas α y β respectivamente. Ambas difieren en longitud y en secuencia de aminoácidos. La cadena α está compuesta por 141 aminoácidos y la β por 146, cuyas secuencias (o estructura primaria de la proteína) se conocen hoy día perfectamente. Ambas cadenas comienzan por una valina N-terminal y tienen una estructura secundaria con una configuración de hélice del tipo α . Los pliegues y la disposición en el espacio de esta configuración α constituyen la estructura terciaria de cada cadena, en la que los diversos plegamientos suelen ocurrir a nivel de restos de prolina o grupos de uno a tres aminoácidos. En conjunto, cada cadena adopta una disposición espacial que es estable desde el punto de vista termodinámico. La configuración α está presente en un 75% de cada cadena, aproximadamente, para constituir ocho segmentos helicoidales diferentes (sólo siete en el caso de la cadena α), designados con las letras A a H, separados por plegamientos (zonas inter-hélice), que a su vez se denominan con las dos letras de los segmentos helicoidales contiguos. De esta forma, cada aminoácido en la cadena puede ser designado bien con un número dentro de cada segmento o bien con otro si se considera a la cadena en toda su longitud.

Los dos pares de cadenas así caracterizados ($2\alpha + 2\beta$) están relacionados entre sí en una orientación espacial muy precisa, que se encuentra estabilizada por enlaces generalmente del tipo de los puentes de hidrógeno o de interacciones no polares en los puntos de contacto. Esta configuración espacial específica que adoptan las cuatro cadenas polipeptídicas para constituir el tetramero o molécula completa de la hemoglobina constituye su estructura cuaternaria, mucho más lábil que las anteriores. Esta disposición de los monómeros es de tal forma que en el espacio las cadenas polipeptídicas disímilares están en estrecho contacto, mientras que las similares están mucho más distantes entre sí, como esquemáticamente se indica en el diagrama siguiente:



De esta forma se establecen dos tipos de contactos entre los monómeros disímilares (contactos $\alpha\beta$): el $\alpha1 = \beta1$ ($\alpha2 = \beta2$) y el $\alpha2 - \beta1$ ($\beta2 - \alpha1$). Es decir, mientras que las interacciones entre el mismo tipo de cadenas (cadenas similares) son en general escasas y de carácter muy débil (sólo existen entre las dos α en la forma desoxigenada), sucede lo contrario con las que se producen entre monómeros disímilares, que son abundantes. Estas últimas se realizan, como hemos visto, entre cada tipo de cadena y las dos opuestas, es decir, cada α con las dos β y cada β con las dos α .

El contacto $\alpha 1 = \beta 1$ ($\alpha 2 = \beta 2$) es firme y rígido (lo representamos con un enlace doble) e imbrica a 34 residuos de aminoácidos (16 residuos de la cadena α y 18 de la β ; sólo a 32 cuando la hemoglobina está desoxigenada). Esta zona de contacto es muy estable y permite pocos movimientos en la transición de la forma oxigenada a la desoxigenada de la hemoglobina; estas dos cadenas constituyen lo que hemos denominado dímeros. Por el contrario, el contacto $\alpha 2 - \beta 1$ ($\alpha 1 - \beta 2$) se disocia más fácilmente (lo representamos con un enlace único), tiene menos uniones intercatenarias (20 residuos de aminoácidos interaccionan en la forma desoxigenada y sólo 19 en la oxigenada de la hemoglobina) y es a su nivel donde tienen lugar los ya mencionados movimientos relativos de las cadenas con la oxigenación y la reducción del tetrámero, es decir, los movimientos de un dímero con respecto al otro.

Cada grupo heme, como ya referimos, está ligado a su cadena polipeptídica en un repliegue especial de ésta y por la unión coordinada del hierro al imidazol de un residuo de histidina, tanto en la cadena α (His 87) como en la β (His 92), y que ocupa el octavo lugar en la hélice F. Es la llamada histidina proximal. La otra valencia libre del hierro queda al otro lado de la estructura casi plana de la protoporfirina y es con la que se une, mediante un enlace covalente, a la molécula de oxígeno. De esta forma, el grupo heme queda, tanto en la cadena α como en la β , en una posición precisa y fija que se sitúa entre los residuos 58 y 87 para la cadena α y entre los 63 y 92 para la β . En ambos casos, los aminoácidos extremos son residuos de histidina y la estructura primaria del fragmento de cadena que los une es siempre la misma para los dos tipos de cadenas y para cualquier otra propia de otros mamíferos distintos del hombre. Por este motivo, invariablemente, los mismos aminoácidos constituyen el repliegue de la cadena en que se introduce el grupo heme.

La molécula de hemoglobina tetramérica de esta manera descrita constituye la forma más importante del eritrocito maduro del adulto y se designa como $HbA_1 (\alpha_2^A \beta_2^A)$. Comprende desde un 90 a un 97 % del total en el hematíe. Otros dos tipos de hemoglobina, genéticamente establecidos, pueden encontrarse junto a esta forma mayor; son la $HbA_2 (\alpha_2^A \delta_2^A)$ y la $HbF (\alpha_2^A \gamma_2^F)$. La primera constituye menos del 2 % del pigmento eritrocitario total y se caracteriza por sus cadenas polipeptídicas δ , que difieren de las β por una sustitución de 10 aminoácidos. La HbF , que tampoco alcanza el 2 % de la totalidad, se define por sus cadenas γ , que se distinguen de las β normales del hematíe maduro en 39 residuos de aminoácidos.

Junto a estos tres tipos de hemoglobinas del adulto pueden encontrarse, en muy pequeñas cantidades en los hemolizados de los hematíes maduros normales, algunos otros tipos; de ellos se piensa que son más bien hemoglobinas alteradas —bien por el envejecimiento o bien químicamente durante los procesos de aislamiento— que no verdaderas formas genéticamente determinadas. Estas hemoglobinas, llamadas también menores, en contraposición a las otras tres, reciben el nombre de "rápidas", ya que emigran algo más deprisa hacia el ánodo en la electroforesis a pH alcalino. Llegan a constituir hasta un 5 o 7 % de la totalidad y se designan con una letra como subíndice según el tipo de residuo al que van unidas. La HbA_{1C} es cuantitativamente la más importan-

te (hasta el 4 o 6 % de la hemoglobina total) y se caracteriza por una molécula de glucosa unida al extremo N-terminal de las cadenas β . La HbA_{1b} se origina por una deamidación de la HbA_{1c}. Las HbA_{1a1} y HbA_{1a2} se definen por la unión, también en el extremo N-terminal de ambas cadenas β , con una molécula de fructosa-1,6-difosfato y de glucosa-6-fosfato, respectivamente. Estas reacciones de glicosilación de las cadenas β de la hemoglobina son lentas y no enzimáticas. El que la HbA_{1c} sea mucho más abundante que el resto de las hemoglobinas en el hematíe se debe al hecho de que la concentración de glucosa en el eritrocito es por lo menos 100 veces superior a la de los azúcares fosforilados, a pesar de que la velocidad de reacción de estos con la hemoglobina es superior a la de la glucosa libre. Ya que, en general, estas uniones de azúcares a las cadenas son irreversibles, la proporción de hemoglobinas glicosiladas aumenta a medida que el hematíe envejece.

Existen durante el desarrollo ontogénico humano, en sus diferentes etapas, algunas hemoglobinas normales que luego no aparecen en el adulto. Hay probablemente dos formas de hemoglobinas embrionarias: son la Gower I (ϵ_4), la más temprana, y la Gower II, la más tardía, que está compuesta por $\alpha_2^A \epsilon_2$. La HbF es el pigmento respiratorio más importante durante el período fetal y es la misma que, a partir del primer año de vida, constituye una mínima parte de las hemoglobinas del eritrocito humano maduro normal.

La capacidad de la molécula de hemoglobina para transportar oxígeno es relativamente baja, ya que se precisan 16 gramos para unirse a 22 mililitros del gas. Por ello, para cumplir esta función de transporte, se necesitan en el hematíe grandes cantidades del pigmento respiratorio. Dos propiedades estructurales hacen posible su alta concentración en el eritrocito: por un lado, su forma esférica o globular compacta, que se origina por los múltiples plegamientos de las cuatro cadenas polipeptídicas; por otra parte, su alta solubilidad, que es en cierto modo consecuencia de lo anterior. En efecto, la superficie externa de la molécula tetramérica de la hemoglobina está recubierta por residuos hidrófilos, mientras que los hidrófobos están orientados hacia el interior de la estructura. Esta última circunstancia, a su vez, protege la estabilidad de la proteína e impide la oxidación del átomo de hierro, ya que el ferroheme es muy inestable en medio acuoso y tiende a oxidarse rápidamente a ferriheme; este es un grupo ineficaz desde el punto de vista del transporte de oxígeno, en contraposición al heme con el hierro en forma reducida, que puede combinarse reversiblemente con el gas respiratorio en estado molecular.

Así pues, los cuatro grupos heme están situados en unos bolsillos ("pocket") hidrofóbicos en cada una de las cuatro cadenas polipeptídicas, gracias a los cuales un medio no polar rodea al oxígeno; de esta forma se protege la estabilidad de su unión con el átomo de hierro y, por ello, la oxigenación reversible.

El conocimiento detallado de la arquitectura de la molécula de hemoglobina se debe a los estudios pioneros, mediante la cristalografía de rayos X, del grupo de Cambridge de Max Perutz (154, 170, 171).

2. *La función de la hemoglobina* (9, 12, 18, 24, 29, 91, 94, 99, 104, 134, 163, 170, 171, 201, 211, 233)

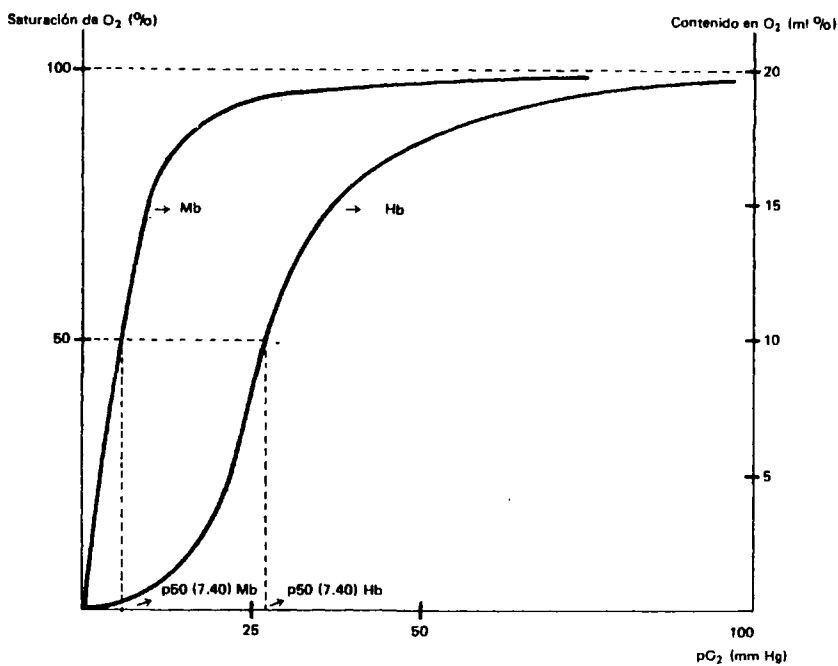
La comprensión de la función transportadora de oxígeno de la hemoglobina se dificulta enormemente por el hecho de la presencia de cuatro grupos heme por tetrámero y, por tanto, por la posibilidad de que los átomos de hierro se unan a una, dos, tres o cuatro moléculas de oxígeno distintas. Pero esta complejidad confiere, sin embargo, a la hemoglobina, una gran ventaja desde el punto de vista respiratorio. En efecto, el hecho de que los cristales de la oxihemoglobina tuvieran forma de aguja y en cambio fueran hexagonales cuando el pigmento se encontraba en estado reducido proporcionó la primera indicación de que la reacción de la hemoglobina con el oxígeno se acompaña de un cambio en su estructura. Los avances logrados en los últimos decenios en Bioquímica y en particular en cristalografía de rayos X han permitido comprender mejor la capacidad de la hemoglobina para fijar el oxígeno de forma reversible y de incrementar su afinidad por él, de manera característica, a medida que progresa esta fijación. Parece ser que la molécula del tetrámero de hemoglobina está en equilibrio entre dos conformaciones espaciales estables muy distintas, que corresponden al estado oxigenado y al reducido. En la primera la afinidad por el gas es grande, mientras que es pequeña en la segunda. Las estructuras cuaternarias intermedias parecen muy inestables. Estas dos conformaciones son la consecuencia de plegamientos y movimientos que tienen lugar en las cadenas polipeptídicas (estructura terciaria), pero particularmente en la interrelación en el espacio de los monómeros (estructura cuaternaria). Una hipótesis para explicar esta transición ha sido propuesta por el grupo de Perutz (154, 170). En la forma oxigenada el átomo de hierro del grupo heme está en el mismo plano que el anillo tetrapirrólico de la protoporfirina, pero, por el contrario, está 0.75 Å fuera de este plano en la forma desoxigenada o reducida. Ello se debe al hecho de que el hierro en estado ferroso tiene un radio atómico demasiado grande para encajar dentro del anillo de la porfirina; pero cuando este hierro reacciona con el oxígeno se hace hexacoordinado y su radio atómico disminuye 0.17 Å, con lo que cabe perfectamente en el plano del grupo heme. De esta forma, un pequeño cambio en el radio atómico se amplifica en el grupo heme para producir un desplazamiento de 0.75 Å en la posición del hierro. Este último movimiento origina una serie de pequeñas modificaciones en la estructura terciaria del polipéptido, ya que, como habíamos comentado, el hierro se encuentra rígidamente unido, a través de la histidina proximal (F8), tanto en las cadenas α como en las β , con el resto de la molécula de hemoglobina. Por ello, con la oxigenación disminuye la distancia entre la histidina proximal y el grupo heme, con lo que la hélice F es empujada y se acerca a la H. Se fuerza así un movimiento mayor aún en el extremo C-terminal con ruptura de puentes y uniones del tipo $\alpha 1\beta 2$ o $\alpha 2\beta 1$ a ese nivel. Es decir, los reajustes en la molécula del tetrámero de hemoglobina que suceden con la oxigenación desestabilizan a la forma reducida de tal manera que ésta tiende a pasar a la otra conformación, la oxigenada, con el establecimiento de nuevos puentes, que además incre-

mentan la afinidad por el oxígeno de otras cadenas que aún no hayan reaccionado con él.

Estos cambios de conformación descritos hasta ahora son la base de una propiedad característica de la hemoglobina que se conoce con el nombre de efecto heme-heme y que es la responsable del progresivo y creciente incremento en su afinidad por el oxígeno que aparece a medida que se satura con él. En definitiva, es el efecto responsable de que la curva de disociación de la hemoglobina ofrezca su típico aspecto, la conocida forma sigmoide, que más adelante comentaremos. En efecto, parece ser que en su reacción con el oxígeno cada cadena polipeptídica por separado muestra un comportamiento similar al de la proteína muscular mioglobina, que tiene una estructura secundaria y terciaria similar a la de los monómeros de hemoglobina y que reacciona con el oxígeno con una curva de disociación hiperbólica, ineficaz desde el punto de vista del transporte de oxígeno. Comparada con la cadena aislada, el tetrámero de hemoglobina representa una mucho más alta organización molecular en cuanto a la eficacia respiratoria.

Ya que la oxigenación de la hemoglobina envuelve la reacción de cuatro moléculas de oxígeno con los cuatro grupos heme (HbO_4), la transformación se producirá a través de estados de oxigenación intermedios. Parece ser que se inicia por los hemes de las cadenas α , ya que en éstas el "bolsillo" es una cavidad algo mayor que en las β , por lo que es más accesible al oxígeno. La oxigenación del primer grupo heme es difícil y lenta, pero una vez que se han producido los cambios de conformación que hemos descrito, se favorece de modo progresivo la oxigenación de los grupos heme sucesivos. Es decir, a la hemoglobina le cuesta comenzar a unirse al oxígeno, pero una vez que lo ha hecho esta dificultad decrece rápida y progresivamente. Dicho de otra forma, la oxigenación de cada grupo heme aminora la dificultad del siguiente, con lo que la unión con nuevas moléculas de oxígeno es cada vez más rápida (porción recta ascendente de la curva de disociación de la hemoglobina).

El mecanismo íntimo del efecto heme-heme no es conocido, pero indudablemente ha de basarse en los cambios de conformación descritos y que se originan en la hemoglobina con la oxigenación; los grupos heme están muy separados unos de otros en la misma molécula como para que uno afecte directamente la afinidad del otro por el oxígeno. En última instancia este fenómeno representa el clásico ejemplo de un efecto alostérico; es el caso de una proteína con varios puntos reactivos. La reacción de uno de ellos con el sustrato altera significativamente la afinidad de los otros puntos por el ligando. En el caso de la molécula de hemoglobina este efecto alostérico se traduce en el fenómeno ya explicado: la oxigenación del primer grupo heme es relativamente difícil, pero una vez que se ha conseguido, la oxigenación del siguiente heme se hace más fácil y así sucesivamente hasta que la totalidad del pigmento respiratorio está saturado con el oxígeno. Esta forma general de cooperatividad, que hemos llamado interacción heme-heme, es la responsable, como ya dijimos, de la forma sigmoide de la curva de disociación de la hemoglobina (Gráfica 1). Proporciona un excelente mecanismo para que el tetrámero se sature con pequeñas variaciones en la presión parcial de oxígeno, como comentaremos más adelante.



Gráfica I: Curvas de disociación del oxígeno de la mioglobina (Mb) y de la hemoglobina normal (Hb), como resultan de su medición "in vitro" a un pH de 7.40, una pCO₂ de 40 mmHg y una temperatura de 37° C. Se considera una concentración de hemoglobina de 15 g %.

Podemos concluir a la vista de estos hechos, que la hemoglobina ha llegado a ser una proteína en la que las correlaciones entre estructura y función han alcanzado un grado de sofisticación probablemente no conseguido por ninguna otra proteína humana.

3. Anomalías estructurales o funcionales de la hemoglobina (104, 113, 225)

Diversos estudios han puesto de manifiesto la presencia de hemoglobinas que, estructural o funcionalmente, son diferentes de las normales. La mayor parte de las veces estas anomalías se deben a alteraciones en la secuencia de los aminoácidos en una de las cadenas polipeptídicas, al haberse permutado, en una determinada posición, uno de ellos por otro que normalmente

no ocupa ese lugar. A veces se sustituyen dos o más aminoácidos o incluso segmentos enteros de una misma cadena. En general, estas anomalías ocurren en familias, son hereditarias y siguen un patrón genético determinado. Parece ser que estas sustituciones se originan por una mutación en el triplete de bases del DNA o codón que gobierna la síntesis de las cadenas proteicas. Se han descrito hasta la fecha más de 120 tipos diferentes de hemoglobinas anómalas, la mayoría de las cuales tienen unas características funcionales normales. Su clasificación es motivo de controversia en el momento actual. Desde el punto de vista de la importancia de la alteración que aparece en el comportamiento funcional del pigmento se dividen de la siguiente forma:

a) Hemoglobinas con un defecto estructural con comportamiento funcional anómalo de importancia fisiopatológica. Dentro de este grupo distinguimos:

α : Hemoglobinas que se agregan o se polimerizan: HbS, HbC, etc.

β : Hemoglobinas inestables que producen cuerpos de Heinz: Hb Zürich, Hb Köln, Hb Santa Ana, Hb Hammersmith, Hb Hasharon, etc.

b) Hemoglobinas con un defecto estructural con funcionamiento anormal del grupo heme. Dentro de este grupo distinguimos:

α : Hemoglobinas M, en las cuales el hierro se encuentra en estado trivalente en las cadenas iguales y por ello no reacciona con el oxígeno. Se conocen varias distintas hasta la fecha: HbM Boston, HbM Hyde Park, HbM Iwate, HbM SasKatoon y HbM Milwaukee.

β : Hemoglobinas con una afinidad anormal por el oxígeno. A su vez se clasifican en:

$\beta 1$: Con afinidad aumentada: Hb Chesapeake, Hb Rainier, Hb Yakima, Hb Capetown.

$\beta 2$: Con afinidad disminuida: Hb Kansas.

$\beta 3$: Con anomalía en la unión del grupo heme: Hb Gun Hill; en ella sólo existen dos grupos heme para las cuatro cadenas polipeptídicas. Se origina al desaparecer un grupo de cinco aminoácidos cercanos al lugar de unión habitual del grupo heme en las cadenas β ; por ello, estas cadenas anómalas carecen de la ferroprotoporfirina.

c) Hemoglobinas con un defecto estructural que no ocasiona repercusión alguna en el comportamiento funcional de la hemoglobina. A este grupo pertenecen la mayoría de las hemoglobinas anormales conocidas.

d) Producción desequilibrada de cadenas polipeptídicas estructuralmente normales. Los procesos patológicos que derivan de este tipo de trastorno son las talasemias y la persistencia en el adulto de la hemoglobina fetal.

Las hemoglobinas anormales también se pueden clasificar desde un punto de vista no funcional sino topográfico, es decir, en atención a las diferentes posiciones en que tiene lugar la sustitución del aminoácido en la molécula del pigmento. Si atendemos a este criterio podemos distinguir los siguientes tipos:

a) Formas que derivan de una sustitución en la zona externa o superficial de la molécula. Aunque este tipo de hemoglobinopatía es el más frecuente, la mayoría de las veces no ori-

gina ninguna alteración funcional ni síndrome hemolítico. Sin embargo, en ocasiones cursa con inestabilidad de la molécula, afinidad anómala por el oxígeno, polimerización etcétera. Ejemplos de este tipo son la HbE, Hb Seattle, Hb Dakar, HbS, etc.

- b) Formas que proceden de una sustitución en la zona interna de cualquiera de las cadenas polipeptídicas. Suelen cursar con un síndrome hemolítico ya que son hemoglobinas inestables.
- c) Formas derivadas de una sustitución en la zona del "bolsillo" del heme, tanto en las cadenas α como en las β . Todas ellas originan manifestaciones patológicas; algunas cursan con cianosis (HbM) y otras con inestabilidad de la molécula (Hb Köln, Hb Hammersmith) o con alteración de la afinidad por el oxígeno.
- d) Formas en las que el trastorno radica en una sustitución en las zonas de contacto $\alpha 1\beta 1$. Suelen ser formas asintomáticas o, alguna vez, hemoglobinas inestables.
- e) Formas en las que se produce una sustitución en las zonas de contacto $\alpha 1\beta 2$. Cursan con anomalía en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno ya que inducen una alteración en el efecto heme-heme.
- f) Formas con sustituciones que afectan a la cavidad central del tetrámero de hemoglobina. Clásicos ejemplos son la Hb Hiroshima y la Hb Manitoba.

De forma general podemos comprobar cómo en cualquiera de estos grupos pueden existir hemoglobinas inestables o con alteraciones en la afinidad por el oxígeno. Las sustituciones de aminoácidos en las zonas de contacto $\alpha 1\beta 2$ ($\alpha 2\beta 1$) son las que más afectan a la interacción heme-heme, como es lógico, ya que es a ese nivel donde los movimientos de los dímeros o hemimoléculas de hemoglobina son más marcados. En las HbM la alteración estructural de la cadena afecta origina en el grupo heme correspondiente la oxidación del hierro y, por tanto, la formación de metahemoglobina, pigmento inservible desde el punto de vista respiratorio.

Las hemoglobinas con alta afinidad por el oxígeno se acompañan frecuentemente de eritrocitosis. La menor liberación de oxígeno a los tejidos, que es su característica esencial, ocasiona hipoxia en ellos, en consecuencia una producción incrementada de eritropoyetina y en definitiva una eritrocitosis compensadora, que suele ser suficiente para contrarrestar el trastorno fisiopatológico. Las hemoglobinas con baja afinidad por el oxígeno no alcanzan la saturación en su paso por los capilares pulmonares y suelen cursar con cianosis.

Con pocas excepciones, todas estas hemoglobinopatías descritas se han encontrado en sujetos heterocigotes en cuyos hematíes la hemoglobina anormal constituye del 15 al 40 % del total. En general puede decirse que estas variantes estructurales tienen un interés que va mucho más allá del meramente intrínseco, ya que han servido para comprobar la relación entre la estructura y la función en la hemoglobina normal y han revelado algunos aspectos funcionales de porciones específicas de la molécula.

4. Otras funciones de la hemoglobina (9, 12, 29, 42, 104, 190, 212, 243)

La hemoglobina cumple otras funciones de gran importancia para el organismo, además de la del transporte de oxígeno. Entre ellas destaca su colaboración en el transporte también del anhídrido carbónico (CO_2) desde los tejidos a los alveolos pulmonares, donde es eliminado con la respiración. Pero al cumplir esta función, la hemoglobina, además, desempeña otra no menos importante; actúa como sistema "buffer", al tamponar aproximadamente un 70 % del CO_2 total producido en los tejidos sin variaciones en el pH. El CO_2 , formado a través de diversos procesos bioquímicos en las células de los tejidos, se encuentra en ellos a unas elevadas presiones parciales. Consecuentemente, por un gradiente de presión, difunde desde estas células al plasma circulante. En él una pequeña parte se transporta en solución simple; otra más importante, sin embargo, reacciona lentamente con el agua para formar ácido carbónico (CO_3H_2), que posteriormente se disocia en ion bicarbonato (CO_3H^-) e hidrogenión (H^+). La mayor parte del CO_2 producido en los tejidos no se detiene en el plasma, sino que pasa al interior de los hematíes. En ellos se transporta de tres maneras diferentes. En primer lugar, una pequeña proporción (5 %) lo hace bajo la forma de solución simple en el medio acuoso del eritrocito. En segundo lugar, un 70 %, aproximadamente, se hidrata rápidamente a CO_3H_2 , gracias a la carbónico-anhidrasa del hematíe, para disociarse posteriormente en H^+ y CO_3H^- ; la hemoglobina es capaz de aceptar este hidrogenión al estar desoxigenada (el oxígeno ha difundido a las células, movido por un gradiente de presión, desde el hierro del heme). De esta forma el pigmento respiratorio ayuda a mantener el pH del eritrocito y del plasma. En tercero y último lugar, un 25 % del CO_2 se combina directamente con residuos de aminoácidos de la molécula de hemoglobina reducida para formar compuestos carbamino, según la reacción:



El ion bicarbonato formado en el interior del hematíe por la acción de la metaloenzima carbónico-anhidrasa difunde hacia el plasma por la existencia de un gradiente de concentración. Para mantener el balance electrostático un ion cloro (Cl^-) penetra en el eritrocito, arrastrando moléculas de agua, con lo que el volumen del glóbulo aumenta. El ion potasio (K^+), por su alta concentración intracorpúscular, podría acompañar al bicarbonato en su desplazamiento extracelular; la baja permeabilidad para el catión de la membrana eritrocitaria se lo impide. Esta secuencia de acontecimientos que acabamos de describir ha recibido el nombre de "desplazamiento Hamburger".

Cuando los hematíes alcanzan la circulación pulmonar y se ponen en contacto con el aire alveolar se produce, al unirse el oxígeno al sexto enlace del hierro del heme, el proceso inverso al hasta aquí comentado. Es decir, el CO_2 difunde rápidamente del medio intraglobular hacia los

alveolos pulmonares para ser eliminado, movido por un gradiente de presión. En el ion Cl^- también ocurre un desplazamiento inverso con la oxigenación.

En resumen, podemos afirmar que la contribución de la hemoglobina al transporte del CO_2 es doble: por un lado el pigmento respiratorio actúa indirectamente al captar los protones formados a partir del CO_3H_2 , al que de esta manera neutraliza. Por otra parte la hemoglobina acarrea directamente el CO_2 , bajo la forma de carbamatos, en los residuos de valina N-terminales de las cadenas α y β .

Es un fenómeno conocido el hecho de que la configuración oxigenada del tetrámero de hemoglobina disminuye enormemente la formación de carbamatos en los aminogrupos N-terminales, en cualquiera de los dos tipos de cadena de la HbA_1 . Estas variaciones en la afinidad del pigmento por el CO_2 con la oxigenación del heme tienen indudablemente también su origen en los cambios de conformación que sufre la molécula de hemoglobina cuando interacciona con el oxígeno. Probablemente los grupos $\text{R}-\text{NHCOO}^-$ pueden acomodarse mejor con la estructura en conformación reducida. Por ello, ya que la formación de carbamatos es mayor cuando la hemoglobina se encuentra desoxigenada, la unión del CO_2 a esta configuración decrece la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, tal y como sucede, como comentaremos, con los protones y el 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG). Dicho de otra manera, la formación de grupos carbamato estabiliza la conformación deoxi de la hemoglobina.

A la vista de lo que hasta aquí hemos comentado quizá sea conveniente ahora indicar cómo la unión y la liberación del oxígeno de los grupos heme de las cadenas polipeptídicas no se encuentra sólo bajo el control o la influencia del ya referido CO_2 , sino, por añadidura, también de otros dos efectores alostéricos ya mencionados: los protones y el 2,3-DPG. Sus efectos están basados en los repetidamente citados cambios de conformación del tetrámero, por lo que no es de extrañar que los tres efectores se influyan mutuamente: la formación del carbamato se correlaciona inversamente con la concentración del glicerato, de lo que puede deducirse su competición por los mismos puntos de unión en la desoxihemoglobina. Pero el 2,3-DPG afecta al transporte del CO_2 por el pigmento no sólo por este mecanismo de competición directa en su unión a la molécula del tetrámero, sino que además lo hace al facilitar que los protones procedentes del CO_3H_2 sean neutralizados por la hemoglobina reducida. Se ha calculado que en presencia de concentraciones normales del organofosfato solamente el 12 % del CO_2 está bajo la forma de carbamatos. En su ausencia, lo está en un 30 % (29).

Para finalizar estos comentarios sobre la función transportadora del CO_2 de la hemoglobina queremos indicar que parece haber sido demostrado el que la unión del anhídrido carbónico al extremo N-terminal de la cadena β tiene un efecto mucho mayor sobre la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno que el que aparece cuando la unión se realiza sobre la cadena α .

II. La relación de la hemoglobina con el oxígeno: la curva de disociación de la hemoglobina

1. La curva de disociación del oxígeno de la hemoglobina

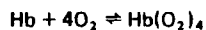
La curva de disociación de la hemoglobina representa la relación general entre la presión parcial del oxígeno en el plasma (pO_2) y la proporción de grupos heme de la hemoglobina que están combinados con él, es decir, la saturación de la hemoglobina (23, 59, 62, 74, 94, 125, 163, 167, 202, 233, 258).

Fue Paul Bert, en 1878 (211), quien primero demostró la existencia de una apetencia de la hemoglobina por el oxígeno. En 1903, el fisiólogo danés Christian Bohr descubrió el ya varias veces mencionado efecto heme-heme, y posteriormente, en 1904, junto con Krogh y Hasselbalch, describió la curva de disociación de la hemoglobina con su característica forma sigmoide (13, 233). Desde entonces, la reacción del pigmento respiratorio con el oxígeno y los mecanismos de adaptación a la hipoxia han intrigado a multitud de investigadores (225). Los grandes fisiólogos de principio de siglo (Barcroft, Henderson, Hüfner y muchos otros) estudiaron en detalle esta curva de saturación (20, 59). El enorme avance conseguido en los últimos años ha culminado con el descubrimiento de la estructura molecular de la hemoglobina por el grupo de Max Perutz en los años 60 (13, 154, 170, 171), como ya hemos comentado.

En efecto, la relación entre la pO_2 y la saturación de la hemoglobina no es lineal, sino que adopta una típica forma sigmoide, como se puede determinar experimentalmente al medir los porcentajes de saturación a diferentes presiones parciales de oxígeno en suspensiones equilibradas de eritrocitos y cuando se disponen los resultados en un sistema de coordenadas cartesianas con la pO_2 en las abscisas y la saturación de la hemoglobina en las ordenadas (Gráfica I) (104).

La unión del oxígeno a la hemoglobina constituye uno de los fenómenos más importantes de la vida; ello se debe a las peculiaridades de este pigmento respiratorio (20), que se traducen en la forma sigmoide de la curva de disociación, la cual depara notables ventajas fisiológicas.

La ecuación de la hemoglobina (Hb) y el oxígeno (O_2)



es una reacción reversible y su equilibrio esta finamente regulado por la pO_2 ; si aumenta, la reacción se desplaza hacia la derecha y hacia la izquierda si disminuye, con lo que la hemoglobina capta o libera oxígeno, respectivamente (94). Si la afinidad del pigmento respiratorio por el gas fuese constante a todos los valores de la pO_2 , la relación de esta última con la saturación de la hemoglobina sería lineal. El que no lo sea, sino que, por el contrario, tenga un carácter sigmoide, quiere significar que la afinidad es diferente a diferentes valores de la pO_2 , modificándose a medida que varía el grado de saturación de la molécula. Este incremento progresivo de la afinidad por el oxí-

geno que se observa cuando aumenta la saturación de la hemoglobina se interpreta en el sentido de que la unión de una molécula de oxígeno a un grupo heme facilita la unión de la próxima molécula a otro heme cercano. Este fenómeno, cuya naturaleza no es del todo conocida, constituye lo que habíamos estudiado y habíamos designado en el apartado anterior como "efecto o interacción heme-heme" (9, 18, 83, 94, 134, 154, 163, 201, 202, 211, 225).

El propósito fisiológico de esta interacción no es tanto asegurar una progresiva afinidad por el oxígeno como hacer que ésta varíe de forma importante a pequeños cambios de la pO_2 y entre determinados límites de ella. Y eso es así porque la pO_2 en los tejidos no es mucho menor que en los alveolos pulmonares; dicho de otra forma, es fácil captar oxígeno, ya que la pO_2 alveolar es muy alta, pero resulta mucho más difícil cederlo a las células, cuando la hemoglobina transportada por los hematíes llega a los tejidos, ya que la pO_2 hística no es excesivamente baja. Las ventajas de esta singular relación entre la pO_2 y la saturación de la hemoglobina son evidentes y esenciales desde el punto de vista del transporte de oxígeno. Con ella se posibilita que el pigmento respiratorio se sature al 100 % aunque el aire alveolar tenga una pO_2 algo menor de la habitual (24, 201, 211), incluso en 25 o 30 mm Hg (225), ya que, a esos niveles de presión, la curva de disociación se encuentra en su parte superior, horizontal, de saturación casi constante (23, 29, 94, 104, 125, 167, 190, 200, 225). Por otro lado, pequeños cambios en la pO_2 venosa, en los tejidos, alteran, por el contrario, marcadamente la liberación del oxígeno; ello se debe a que aquí estos valores de la pO_2 coinciden con la porción recta, ascendente, de la curva, en la que mínimas variaciones en la presión parcial acarrearán profundas modificaciones en la saturación (23, 24, 29, 94, 104, 190, 200, 201, 202, 211, 225).

Podríamos establecer, por lo tanto, en la curva de disociación de la hemoglobina, dentro de los límites de 30 y 100 mm Hg entre los que varía la pO_2 en el hombre, dos porciones. Una superior o zona de carga o de asociación al oxígeno, horizontal, que es la que se utiliza a nivel del capilar pulmonar; en ella grandes variaciones en la pO_2 alveolar sólo conllevan pequeños cambios en la saturación de la hemoglobina (es notorio que las enfermedades pulmonares cursan con leves hiposaturaciones arteriales a pesar de las marcadas hipoxemias). Junto a esta porción superior, otra inferior, casi vertical, zona de disociación o de descarga hística, que es la que se utiliza a nivel de los tejidos. En ella, como ya hemos dicho, pequeñas variaciones en la pO_2 afectan mucho a la saturación y por tanto a la extracción de oxígeno por las células (29, 83) (Gráfica I).

El valor fisiológico de la hemoglobina como transportador del gas reside precisamente en este hecho de que su afinidad está de tal forma regulada que en los pulmones es capaz de saturarse casi en el 100 %, mientras que en los tejidos puede ceder el oxígeno que convenga. Si su afinidad fuera menor, la oxigenación en los alveolos no sería completa, y si fuera mayor las células no recibirían el oxígeno necesario al no poder desprenderse del pigmento (59).

El comportamiento de la hemoglobina tetramero contrasta notablemente con el de la proteína "respiratoria" muscular o mioglobina. En efecto, la curva de saturación de esta última tiene

una forma hiperbólica, precisamente igual a la de los monómeros de hemoglobina aislados (Gráfica I) (28, 134). Las funciones respectivas de la hemoglobina, como transportador de oxígeno, y de la mioglobina, como reservorio de él en los tejidos, son realizadas de manera óptima por estas proteínas gracias a su diferente comportamiento en lo que se refiere a su afinidad por el gas. A las presiones parciales que reinan en los tejidos la mioglobina, en oposición a la hemoglobina y por la forma de su curva de saturación, continúa mostrando una fuerte apetencia por el oxígeno, por lo cual la captación y el reservorio del gas en el músculo se ven enormemente facilitados. La proteína respiratoria muscular está constituida por una sola cadena peptídica, por lo que no goza de las ventajas funcionales de la estructura cuaternaria que presenta el tetrámero de hemoglobina, con acciones intramoleculares, y por tanto tampoco del efecto heme-heme, o quizá más propiamente cadena a cadena, ya tantas veces comentado (28, 134, 202, 211, 225). Puede decirse a este respecto que la mioglobina sería inútil como pigmento transportador de oxígeno, ya que su afinidad por él es tan grande que se necesitarían unas presiones parciales muy bajas para que fuera capaz de cederlo a los tejidos (134, 200). Estas diferencias que existen entre la hemoglobina y la mioglobina son las mismas que muestran ciertas enzimas llamadas alostéricas, siempre polímeros, y las enzimas con cinética michaeliana. Las primeras presentan una curva de Michaelis-Menten (velocidad de la reacción-concentración del sustrato) de tipo sigmoide, mientras que las segundas la tienen de forma hiperbólica (134). En general, las enzimas alostéricas son reguladoras, es decir, se suelen ubicar al comienzo de las vías metabólicas, donde actúan modificando el flujo a través de ellas. La forma de su curva de velocidad de reacción permite que en determinados intervalos de concentración de sustrato se produzca un aumento muy rápido de esta velocidad, casi al máximo, con muy pequeñas variaciones en la tasa del mencionado sustrato. Es norma habitual, además, que sobre este tipo de enzimas actúen una serie de moduladores, que suelen ser el producto final de la cadena metabólica, cuya acción se cifra en desplazar la posición de la curva, la cual, de esta forma, se escapa de la franja de concentraciones fisiológicas del sustrato. Aspectos en todo superponibles a estos de la forma y la posición de la curva de velocidad de reacción de las enzimas alostéricas los presenta también la curva de disociación del oxígeno de la hemoglobina, como hemos referido en parte y analizaremos a continuación de una manera más completa.

La interpretación cuantitativa de la curva de saturación de la hemoglobina utiliza dos parámetros principales: la p_{50} y la "n" de Hill. La denominada p_{50} se define como la presión parcial de oxígeno en torrs (mm Hg) a la cual la hemoglobina se encuentra saturada en un 50 %. En definitiva nos indica cuál es la posición de la curva de disociación en el sistema de coordenadas cartesianas y no es sino una traducción de la inversa de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Dicho de otra forma: cuando la p_{50} aumenta, es decir, la curva se desplaza hacia la derecha, la afinidad por el oxígeno disminuye, ya que para la misma pO_2 la saturación de la hemoglobina es entonces menor (29, 99, 134, 211). Cuando la p_{50} disminuye sucede el fenómeno contrario. Podría decirse que la p_{50} tiene una significación análoga a la K_m de las enzimas de cinética michaeliana

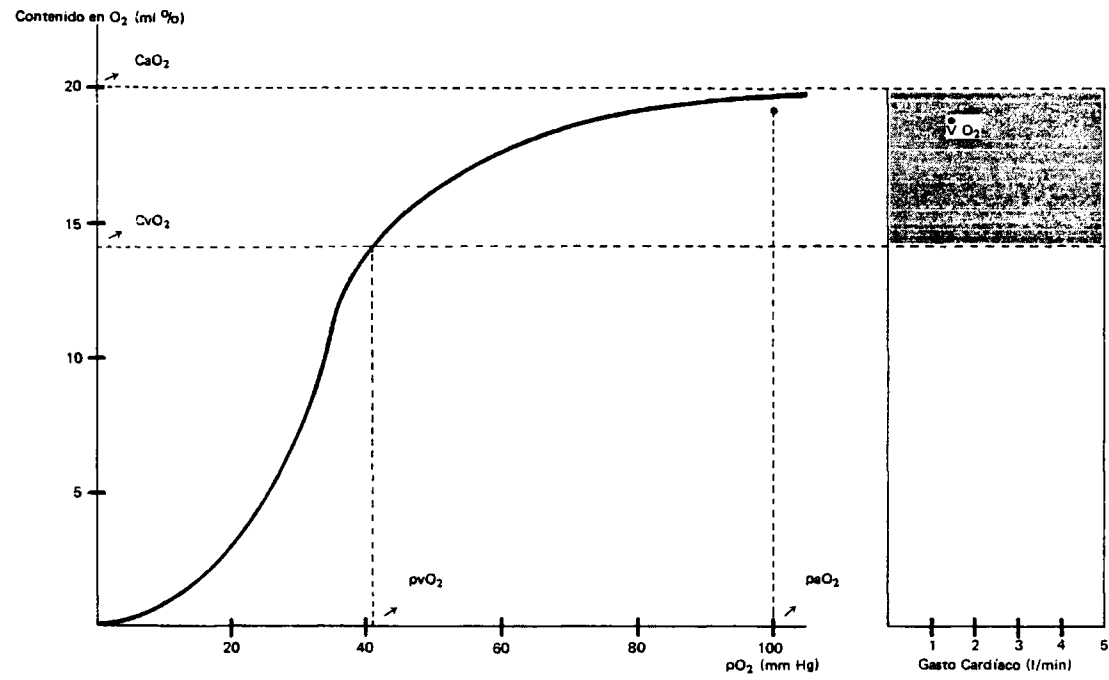
o la $K_{1/2}$ ($S_{0.5}$) de las enzimas alostéricas. Se distinguen dos tipos de valores para la $p50$ según cuáles sean las condiciones de su medida. La llamada $p50$ "in vitro", "standard", estable o 7.40, que representa el valor obtenido cuando la determinación se hace a un pH de 7.40, una pCO_2 de 40 mm Hg y una temperatura de 37° C. En contraposición a ésta se distingue la $p50$ "in vivo" o actual, que es la medida directamente, sin correcciones previas para el pH, la pCO_2 o la temperatura. Es decir, es en la que prevalecen las condiciones "in vivo", por lo que posee un mayor significado fisiológico que la $p50$ estable, al reflejarse en ella los efectos del pH eritrocitario, de la pCO_2 plasmática, de la carboxihemoglobinemia, del 2,3-DPG y del ATP, todos ellos moduladores alostéricos de la curva de saturación, como describiremos más adelante (7, 25, 29, 59, 134, 190, 193, 233, 241, 258). En el valor de la $p50$ (7.40) se excluye específicamente el efecto del pH o efecto Bohr (25, 233); el parámetro —la $p50$ (7.40)— tiene gran utilidad para el estudio de las hemoglobinopatías (59). Existen diversos procedimientos, tanto directos como indirectos, para medir ambas $p50$, para transformar una en otra o para determinar la curva de disociación de la hemoglobina (3, 59, 99, 160, 209, 210). Los valores normales en el hombre para cualquiera de los dos tipos de la $p50$ oscilan entre 24 y 28 mm Hg (3, 14, 15, 45, 47, 49, 53, 59, 63, 69, 72, 82, 84, 87, 91, 93, 105, 124, 142, 148, 149, 150, 163, 169, 211, 232, 236, 237, 251). Es clásico el valor 26.6 mm Hg; en este caso, con una pO_2 de 26.6 mm Hg la hemoglobina se encontraría saturada en un 50 % (211).

Desde un punto de vista funcional, la posición de la curva de disociación en relación a la pO_2 , esto es, al eje de las abscisas, como queda definida por la $p50$, es de una enorme importancia, ya que esta posición también influye en la proporción de oxígeno que es liberado en los tejidos (29, 134, 211).

Dicho de otra forma, curvas desplazadas hacia la derecha se acompañan de una mayor cesión del gas por parte de la hemoglobina; sucede lo contrario cuando la curva se desvía hacia la izquierda. Esto puede esquematizarse según el conocido principio de Fick:

$$\dot{V}O_2 = \dot{Q} (CaO_2 - CvO_2)$$

donde $\dot{V}O_2$ es el oxígeno liberado a los tejidos (en mililitros), \dot{Q} es el gasto cardíaco (en litros/minuto) y CaO_2 y CvO_2 son el contenido de oxígeno arterial y venoso respectivamente (en mililitros/100 mililitros de sangre). Esta ecuación también puede representarse gráficamente (Gráfica II). De la figura se desprende fácilmente que cuando se produzca un desplazamiento de la curva hacia la derecha y con una presión parcial venosa de oxígeno (pVO_2) y un gasto cardíaco constantes, el contenido venoso en O_2 (CvO_2) disminuirá, con lo cual aumentará la diferencia arterio-venosa ($CaO_2 - CvO_2$) y, por ello, el oxígeno liberado a los tejidos ($\dot{V}O_2$). Lo contrario sucederá cuando la curva se desplace hacia la izquierda (211). La forma sigmoide de la curva ofrece aquí otra ventaja más, ya que estos desplazamientos no alteran, salvo que sean verdaderamente impor-



Gráfica II: Representación esquemática del principio de Fick. Abreviaturas y explicación en el texto. Tomado de Shappell y Lenfant (211).

tantes, el contenido arterial de oxígeno (CaO_2), es decir, no afectan a su captación a nivel de los alveolos pulmonares (24, 83, 225). En el caso de enfermedad pulmonar severa, con hipoxia alveolar pronunciada, los desplazamientos de la curva hacia la derecha pueden ser perjudiciales para el organismo, ya que disminuyen la saturación arterial de la hemoglobina (5, 25, 258). En esta misma circunstancia, y por motivos opuestos, los desplazamientos hacia la izquierda favorecen de forma significativa la captación de oxígeno en la circulación pulmonar. Pero esta hipotética ventaja se ve desbordada por el gran inconveniente que representa el defecto de su liberación a nivel de los tejidos. El resultado final, en este caso concreto, sería una caída neta en la oxigenación hística (142).

Puede concluirse con la afirmación de que las desviaciones en la curva de saturación de la hemoglobina no son sino un mecanismo más de adaptación a la hipoxia, que además ahorran trabajo cardíaco. Por este y por los otros motivos hasta ahora expuestos podemos decir que la forma de la curva es la ideal para la participación fisiológica de la hemoglobina en el transporte de oxígeno (24). De ahí la importancia de llegar a conocer, en determinadas situaciones clínicas, su forma y su posición y por ello la $p50$, su expresión numérica.

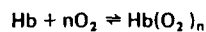
El otro parámetro del que depende la interpretación cuantitativa de la curva de saturación de la hemoglobina es, como habíamos dicho, junto a la $p50$, la "n" de Hill. Este parámetro aporta la traducción numérica de la interacción heme-heme (18, 134, 225). Su estudio se deriva de la consideración de la ecuación de Michaelis-Menten, que relaciona la concentración de un sustrato ([s]) con la velocidad de la reacción (v) catalizada por un enzima:

$$\frac{v}{v \text{ máxima}} = \frac{[s]}{K_m + [s]}$$

Es ésta una función que adopta la forma de una rama de hipérbola equilátera que tiende asintóticamente a la velocidad máxima. Esta curva es similar a la de la saturación de la mioglobina, por lo que podríamos escribir:

$$\frac{SO_2}{100} = \frac{pO_2}{p50 + pO_2}$$

donde SO_2 es el tanto por ciento de la mioglobina que se encuentra en forma oxigenada. En el caso de la curva de disociación de la hemoglobina esta ecuación no es aplicable, sino que la función sigmoide viene definida por la ecuación de Hill, propuesta empíricamente por este autor en 1913 (9, 134) y que considera la reacción:



por lo que la ecuación se expresa:

$$\frac{SO_2}{100} = \frac{(pO_2)^n}{(p50)^n + (pO_2)^n}$$

en ella el exponente "n" refleja el grado de interacción heme-heme; su máximo teórico es igual al número de grupos heme, es decir, los cuatro puntos de unión con el oxígeno por cada molécula de hemoglobina. Cuando "n" es igual a uno, nos volvemos a encontrar con la ecuación de la curva de saturación de la mioglobina. Si "n" es mayor de uno, la ecuación de Hill se representa por una curva sigmoide que se aleja tanto más de la hipérbola equilátera cuanto mayor es el valor de "n".

La ecuación de Hill puede ser transformada de la siguiente manera:

$$\frac{100}{SO_2} = 1 + \frac{(p50)^n}{(pO_2)^n}$$

por lo que

$$\frac{100 - SO_2}{SO_2} = \frac{(p50)^n}{(pO_2)^n}$$

y

$$\frac{SO_2}{100 - SO_2} = \frac{(pO_2)^n}{(p50)^n}$$

y tomando logaritmos

$$\log \frac{SO_2}{100 - SO_2} = n \log pO_2 - n \log p50$$

o también

$$\log p50 = \frac{n \log pO_2 - \log \frac{SO_2}{100 - SO_2}}{n}$$

Si en un sistema de coordenadas cartesianas ponemos al $\log pO_2$ en las abscisas y al logaritmo del cociente $\frac{SO_2}{100 - SO_2}$ en las ordenadas, la función de Hill se transforma en una recta de pendiente "n". Pero además, el valor del $\log pO_2$ para el que la SO_2 es igual a 50, es decir, para el que el cociente $\frac{SO_2}{100 - SO_2}$ es cero, es igual al logaritmo de la p50 (9, 18, 24, 134, 190).

Esta representación gráfica simple permite la determinación simultánea de los dos parámetros buscados: la p50 y la "n" de Hill. El valor normal de este último para la hemoglobina normal del adulto es aproximadamente 2.7 siempre que nos encontremos entre unos límites de la SO_2 de 20

y 70 %, intervalo en el que el valor de "n" permanece constante (190, 193, 213, 225). La "n" de Hill apenas varía con el pH eritrocitario o con las concentraciones de 2,3-DPG, es decir, los moduladores alostéricos de la curva de saturación de la hemoglobina (hidrogeniones, 2,3-DPG, CO₂, temperatura) modifican su posición (como analizaremos), pero no su forma (18, 46). Por ejemplo, cuando el pH pasa de 7.2 a 7.8, la pCO₂ sube de 0 a 40 mm Hg, la carboxihemoglobine-mia asciende del cero al 20 % y el 2,3-DPG se eleva de 0.12 a 12.7 micromoles/gramo de hemo-globina (μmoles/g Hb), el valor de "n" varía de 2.5 a 2.7, mientras que el de la p50 (la posición de la curva) lo hace de 13.2 a 39.5 mm Hg (241).

2. El efecto de los moduladores alostéricos sobre la curva de disociación de la hemoglobina

La curva de saturación de la hemoglobina es el resultado, como hemos comentado, de la interacción del oxígeno con el pigmento respiratorio. La posición de esta curva en el sistema de coordenadas (pO₂ – SO₂), tal y como se define por la p50, es influida por una gran diversidad de factores en el hematíe circulante. Estos factores constituyen los denominados moduladores alostéricos de la curva de disociación de la hemoglobina. Entre ellos citaremos, como más importantes, los hidrogeniones, el CO₂, la temperatura, ciertos polifosfatos orgánicos intraeritrocitarios —sobre todo el 2,3-DPG, el ATP y el ADP—, los aniones y cationes monovalentes, la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), el fosfato inorgánico (P) y el glutatión reducido (GSH). Pero la posición de la curva también se influye por cambios en la estructura o en la función de la hemoglobina, como sucede en los casos de la metahemoglobinemia, de la carboxihemoglobine-mia o de las hemoglobinas M (9, 12, 13, 22, 23, 29, 41, 42, 46, 59, 62, 74, 83, 94, 99, 125, 134, 143, 163, 167, 190, 201, 211, 241).

De todos ellos sólo el pH, la pCO₂, el 2,3-DPG y la temperatura tienen una importancia real en condiciones normales en el sujeto vivo. A estos cuatro factores mayores, que modulan la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y por ello la posición de su curva de saturación, es decir, la p50, les dedicaremos atención preferente (9, 12, 143, 190).

Desde un punto de vista histórico fueron Bohr, Hasselbalch y Krogh quienes, en 1904, por vez primera, comprobaron cómo al añadir dióxido de carbono a la hemoglobina en solución se producía una liberación de oxígeno. Desde entonces, este fenómeno ha recibido la denominación de efecto Bohr (134, 211, 213). Diez años más tarde Christiansen, Douglas y Haldane demostraban un fenómeno inverso: la hemoglobina desoxigenada se unía más fácilmente que la oxigenada al CO₂ o, dicho de otra forma, el oxígeno facilitaba el desprendimiento del anhídrido carbónico de la hemoglobina. Este fenómeno conserva desde entonces el nombre de efecto Haldane (212, 213). Ambos efectos se adscriben a una acción directa de los hidrogeniones sobre el pigmento respiratorio. Posteriormente se ha comprobado que el CO₂ provoca un efecto específi-

co sobre la curva de disociación, que no está mediado por la concentración de iones hidrógeno (42, 142). Detallados estudios posteriores han relacionado y explicado estos fenómenos y su causa a nivel molecular (94, 143, 170, 212, 213, 214, 215).

El primer mecanismo de control real del transporte del oxígeno por la hemoglobina fue, como hemos dicho, reconocido hace años y denominado, desde entonces, efecto Bohr. Puede ser definido como la afinidad recíproca del oxígeno y los hidrogeniones por la hemoglobina (12, 29, 190, 212). Por ello, un aumento en la concentración de estos últimos (descenso del pH) se acompaña de una disminución en la aptencia del pigmento respiratorio por el gas. Y a la inversa, cuando aumenta la oxigenación de la hemoglobina se liberan iones hidrógeno y cuando se desoxigena se captan protones. Dicho de otra forma: en medio ácido la afinidad de la proteína por el oxígeno disminuye, es decir, su p50 aumenta, mientras que sucede lo contrario en medio alcalino. El

efecto Bohr se traduce cuantitativamente por la relación $\frac{\Delta \log p50}{\Delta pH}$, que expresa el cambio en el log pO₂ con el pH cuando la saturación y la presión parcial de oxígeno son constantes. El valor numérico de este coeficiente de Bohr para la sangre total, a un pH plasmático de 7.40 y una pCO₂ de 40 mm Hg con una concentración normal de 2,3-DPG, es de -0.40 (12, 99, 134, 142, 210, 212, 213, 215, 243, 258).

Esta unión preferente de los protones a la desoxihemoglobina, que determina una disminución en la afinidad del pigmento por el oxígeno, es el origen del desplazamiento hacia la derecha de la curva de saturación que aparece cuando disminuye el pH. Se ha establecido que con una pCO₂ constante la caída de 0.1 unidades en el pH de la sangre induce un incremento de 2.6 mm Hg en el valor normal de la p50 y la disminución en 0.4 unidades lo aumenta en 12 mm Hg (210, 211), como puede deducirse si aplicamos la fórmula anteriormente expuesta.

El efecto Bohr es el resultado de la presencia en la hemoglobina de aminoácidos que son ácidos más débiles cuando el pigmento está reducido que cuando está oxigenado. Actualmente parece estar firmemente establecido que la histidina C-terminal de la cadena β (β146) y el grupo amino N-terminal de la valina de la cadena α (α1) son los responsables del 75 % del efecto Bohr (12, 29).

Esta propiedad de la hemoglobina de soltar protones cuando reacciona con el oxígeno o de captarlos cuando se desprende de él proporciona al organismo un mecanismo fisiológico de gran importancia para el transporte de los gases respiratorios. En efecto, cuando el oxígeno es liberado en los tejidos, la desoxihemoglobina muestra mayor tendencia a captar los hidrogeniones que proceden de la hidratación del anhídrido carbónico que se ha formado durante el metabolismo celular (12, 29). Con ello se evitan cambios drásticos en el pH, por lo que la hemoglobina funciona además, como ya habíamos referido, como un sistema "buffer". Cuando los eritrocitos alcanzan la circulación pulmonar se produce el fenómeno inverso.

El efecto Bohr es, en definitiva, un ejemplo más de cooperación alostérica (29).

El anhídrido carbónico tiene también una acción definida sobre la posición de la curva de saturación de la hemoglobina, independientemente de la que ejerce a través del pH. Actualmente es conocido que el CO₂ despliega un efecto directo y específico sobre el pigmento respiratorio y, por lo tanto, sobre la p50, al unirse bajo la forma de carbamatos a los cuatro residuos N-terminales de las cadenas polipeptídicas (99, 190, 210, 211, 212, 233, 243). Ya lo habíamos comentado cuando hablamos de las funciones de la hemoglobina. Quizá el efecto del CO₂ sobre esta proteína queda esquemáticamente simplificado al establecer que en un 75 % se debe al aumento en la concentración de hidrogeniones y que en el 25 % que resta se origina por la formación de compuestos carbamino (190, 211, 213). Como ya explicamos anteriormente, la formación de carbamatos es más acentuada cuando la hemoglobina se encuentra en su conformación reducida, lo que, en definitiva, es el origen de la disminución que induce el CO₂ en la afinidad del pigmento respiratorio por el oxígeno (41, 42, 190, 212).

A la vista de lo que hasta aquí hemos expuesto referente al CO₂, se comprende por qué el efecto Bohr medido cuando varía la pCO₂ es superior (-0.48) al que se objetiva cuando el pH se altera por cualquier otro ácido (el valor de -0.40 que ya comentábamos) (99, 210, 233). Es decir, la acción intrínseca del anhídrido carbónico sobre la afinidad del oxígeno es relativamente pequeña. Un aumento de la pCO₂ desde 40 a 60 mm Hg a pH constante sólo hace subir la p50 de 27 a unos 28 mm Hg (258).

El efecto de la temperatura sobre la curva de disociación de la hemoglobina fue observado inicialmente por Paul Bert en 1872 al comprobar cómo con una tensión de oxígeno de 15 mm Hg la sangre se encontraba saturada en un 90 % a temperatura ambiente, mientras que sólo lo estaba en un 50 % a la temperatura corporal (99). La expresión cuantitativa de la relación entre la temperatura (T) y la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno se desprende de la ecuación (210, 258):

$$\frac{\Delta \log p50}{\Delta T} = 0.024$$

Es decir, un incremento en la temperatura de 1° C aumenta la p50 desde 27 a 28.5 mm Hg. Si la temperatura corporal varía de 37 a 41° C, la p50 puede alcanzar 33.6 mm Hg. Sin embargo, dentro de los límites de variación fisiológica, éste es un factor de poca importancia, en condiciones habituales, como para que se utilice entre los mecanismos de control en el hombre (29, 211).

En general puede afirmarse que la influencia de los tres moduladores alostéricos es más marcada en la porción pendiente de la curva que en su zona superior u horizontal. Conviene recordar, también, que la modulación que realizan está orientada a favorecer la captación del oxígeno a nivel pulmonar —donde la pCO₂ y la temperatura son menores y el pH mayor que en los tejidos, por lo que la curva se desplaza hacia la izquierda— y a su liberación —por los motivos inversos— a nivel tisular (104, 125).

Otro ejemplo de la importancia relativa de estos factores se observa en las situaciones clínicas que cursan con un metabolismo celular incrementado, que al asociarse, en general, a una hipertermia y a un pH bajo se ven favorecidas por un mayor aporte de oxígeno a los tejidos (41, 104).

El cuarto factor modulador alostérico de la curva de saturación de la hemoglobina es el 2,3-DPG. Su estudio lo efectuaremos más adelante, cuando comentemos específicamente este intermediario glicolítico. Conviene recordar ahora que la relación cuantitativa entre la concentración eritrocitaria de 2,3-DPG y la liberación de oxígeno por la hemoglobina es muy precisa. Después de múltiples experiencias se ha comprobado una relación lineal entre el 2,3-DPG y la p50 dentro de los límites de oscilación fisiológica. Por cada 0.440 micromoles/ml de hematíes que varíe el 2,3-DPG, la p50 lo hace en 1 mm Hg (42, 147, 149), lo que aproximadamente equivale a decir que, cuando el pH y la pCO₂ son normales, un incremento del 20 % en el 2,3-DPG aumenta la p50 entre 1.5 y 2 mm Hg (258). Este efecto del 2,3-DPG sobre la p50 se ejerce, como veremos, a través de dos mecanismos distintos; por un lado, por una acción directa sobre la hemoglobina, y por otro, por su acción acidificante del pH intracelular (99, 210, 258). Es también interesante recordar que los efectos del pH y del 2,3-DPG sobre la p50 se contraponen, de tal forma, que la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno permanece constante, en los sujetos normales, dentro de un amplio campo de oscilaciones del pH plasmático (24, 25). En efecto, el pH tiene una acción dual sobre la posición de la curva de saturación de la hemoglobina. Por un lado, una acción directa (efecto Bohr), que ya hemos comentado. Por otro, una acción indirecta (efecto no Bohr del pH), mediada a través de su influencia sobre la concentración de 2,3-DPG (25, 83, 142, 233), ya que, como es conocido, la acidosis disminuye el flujo glicolítico y por ello las tasas del glicerofosfato. La primera acción ocurre instantáneamente, en cuanto varía el pH, mientras que la segunda precisa del tiempo necesario para que se produzcan cambios en la glicolisis (83, 233, 241). La alcalosis inducida por la inyección intravenosa de bicarbonato sódico no produce modificaciones en el 2,3-DPG durante las primeras cuatro horas, pero sí un incremento progresivo entre las 24 y 48 horas. "In vitro" el tiempo necesario parece algo más corto (142). Por todo ello, en las anomalías del equilibrio ácido-base de corta duración, la curva de saturación de la hemoglobina se regula por la vía del efecto Bohr. Por el contrario, en los cambios del pH de instauración lenta o prolongada, la regulación se ejerce preferentemente por el 2,3-DPG (142, 233), según explicamos en detalle más adelante. De esto último se deduce que la corrección brusca de una acidosis severa en la Clínica puede resultar en un importante incremento en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, ya que, como decimos, los cambios en los niveles de 2,3-DPG son relativamente lentos, con un tiempo medio aproximado de 11 horas (25, 83). Esto puede explicar el empeoramiento que a veces sucede tras la rápida normalización de un pH ácido en una cetoacidosis diabética (7, 65, 211) o en otras situaciones análogas (116). Así pues, en las anomalías del equilibrio ácido-base de larga duración, el 2,3-DPG trata de minimizar los desplazamientos que ocurrirían en la curva de saturación si el efecto Bohr no fuera contrarrestado (233). Excepción a este

postulado la encontramos, en la Clínica, en el feto y en el recién nacido, en los que el efecto del pH sobre la curva predomina sobre el que el 2,3-DPG ejerce en sentido contrario (la acidosis disminuye el 2,3-DPG). Esto es debido a que el fosfoéster interacciona mal con la HbF, por lo que el efecto Bohr no resulta contrarrestado por la caída en la concentración del 2,3-DPG en el eritrocito inducida por la acidosis (258).

Además de los cuatro moduladores alostéricos de la curva de disociación de la hemoglobina hasta ahora referidos, conviene recordar que otras circunstancias pueden modificar también la p50. Tal es el caso de la carboxihemoglobinemia, sobre todo en los sujetos fumadores. Por cada elevación de la HbCO del 5 %, entre 5 y 20 %, se produce una variación de 1 mm Hg en la p50 (199).

La naturaleza de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno se encuentra de forma similar en todos los vertebrados, a pesar de que la estructura molecular del pigmento respiratorio varía entre las diferentes y aún dentro de las mismas especies. Factores tales como el pH, la pCO₂, los fosfatos orgánicos eritrocitarios o la temperatura, que ya hemos comentado, ejercen esencialmente la misma influencia sobre la curva, aunque la magnitud en que lo hacen es variable y depende del tipo de adaptación de cada organismo a su medio ambiente. De esta forma, la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno en los peces que viven en ambientes pobres en el gas es mucho mayor que la de los peces de aguas bien oxigenadas. Los peces con migraciones estacionales, que pasan de vivir en ambientes con aguas templadas tropicales a otras del Atlántico Norte, poseen hemoglobinas prácticamente insensibles a la temperatura; esta adaptación representa una indudable ventaja fisiológica al hacer que la carga y la descarga del oxígeno sea independiente de la temperatura (211).

Otro ejemplo de adaptación evolutiva en la curva de disociación nos lo proporciona la comparación de la transición de los animales de respiración acuática —con mucha mayor afinidad por el oxígeno— a los de respiración atmosférica —con menor apetencia por el gas—. Esta transición en las propiedades de la hemoglobina puede estudiarse en un mismo animal (tal es el caso de la metamorfosis de los anfibios) y ha sido objeto de diversos trabajos de investigación (211).

Por todo ello, aunque la forma general y las propiedades de la curva de disociación de la hemoglobina son similares en muchos animales, las posibilidades de una adaptación especializada a los muy distintos medios ambientes demuestran su gran dinamismo e ilustran su variabilidad en los diferentes vertebrados (211).

La posibilidad surgida últimamente en la Clínica de actuar con fines terapéuticos por medio de diversas sustancias sobre la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, a través de la inducción de cambios en la p50, con las enormes implicaciones que ello conllevaría, ha conferido al estudio de la curva de saturación de la hemoglobina un nuevo y creciente interés (92, 99).

3. La curva de disociación de la hemoglobina en algunas situaciones clínicas

La curva de saturación de la hemoglobina, es decir, la afinidad de la hemoproteína por el oxígeno, ha sido estudiada en un gran número de situaciones patológicas; se ha querido precisar si las alteraciones en su posición constituyen un mecanismo de adaptación a la enfermedad (211).

El pH es, como hemos referido, el factor más importante que, de forma inmediata, afecta la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, por lo que la acidosis aguda, al desplazar la curva de disociación hacia la derecha, promueve la liberación del gas hacia los tejidos. Esto es lo que sucede durante las primeras horas, ya que, posteriormente —ya lo habíamos comentado—, la caída en los niveles de 2,3-DPG que resultan del efecto inhibitor del pH sobre el metabolismo eritrocitario amortiguan esta desviación. Por el contrario, la alcalosis aguda, como la que aparece inicialmente en el shock endotóxico, dificulta la liberación del oxígeno a través del efecto Bohr. Posteriormente, los cambios compensadores en el 2,3-DPG amortiguan parcialmente el efecto del pH. Estos hechos sugieren que los desplazamientos en la curva de saturación no parecen jugar un papel importante en la homeostasis de los trastornos mantenidos del equilibrio ácido-base (211).

En la insuficiencia cardíaca congestiva se ha objetivado una desviación a la derecha de la curva de disociación que parece estar mediada por el 2,3-DPG y cuya magnitud es proporcional a la severidad del proceso. La consiguiente liberación de oxígeno a los tejidos debe de ser un mecanismo compensador del bajo volumen minuto cardíaco característico de esta situación (211).

Durante las crisis de angina de pecho se produce un fenómeno similar al descrito a los pocos minutos del comienzo del dolor. El mecanismo que origina el desplazamiento no es conocido, ya que no parece estar relacionado con el pH, el lactato, el 2,3-DPG o el ATP (211).

En las hipoxemias asociadas a cardiopatías congénitas con cortocircuito derecha a izquierda se produce también una disminución en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, que ahora se sabe que está mediada por el 2,3-DPG. Este cambio se ha considerado como una adaptación útil del organismo a la enfermedad, ya que, al facilitar el aporte del gas respiratorio, evita la puesta en marcha de otros mecanismos más costosos desde el punto de vista energético (211, 258).

Un desplazamiento hacia la derecha en la curva de saturación en los enfermos anémicos fue evidenciado por primera vez en 1930 (20). Este hallazgo ha sido confirmado posteriormente (13, 20, 33, 64). En general, se ha demostrado una correlación negativa entre la p50 y la tasa de hemoglobina (23). Mitchell y Pegrum (150) también han encontrado una p50 "in vitro" elevada en 30 enfermos anémicos afectados de insuficiencia renal crónica. Sin embargo, al separar a los 20 pacientes incluidos en programa de hemodiálisis periódica —con pH normal— de los 10 restantes —con acidosis—, la situación era diferente: en los primeros se confirmaba la elevación de la p50 "in vitro"; en los segundos estaba disminuida. Estos hallazgos sugieren nuevamente que la acidosis aumenta la p50 "in vivo", pero que al inhibir la síntesis del 2,3-DPG hace caer a la p50 "in vitro" (150).

La inhalación de monóxido de carbono (CO) se asocia a una desviación hacia la izquierda en la curva de saturación. La menor oferta de oxígeno a los tejidos que ello acarrea pudiera tener cierta importancia a la hora de explicar la mayor incidencia de la cardiopatía isquémica entre los grandes fumadores que, como es sabido, pueden alcanzar niveles de carboxihemoglobemia del 10 al 30 % (13, 199, 211). Además parece ser que el CO inhibe la glicolisis anaerobia del hematíe y por ello reduce la formación de 2,3-DPG (211). Estos hechos, junto con la disminución en la capacidad de transporte de oxígeno por la hemoglobina, que se encuentra parcialmente saturada con el CO, hacen que la hipoxia hística origine una eritrocitosis; esta poliglobulia no depende de la hipoxemia, ni por lo tanto, de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica tan frecuente en el fumador, sino que es propia de la inhalación crónica de monóxido de carbono; no es de extrañar, por ello, que desaparezca al suprimir el tabaco (105, 199).

En las situaciones que cursan con hipoxia, como suele suceder en la enfermedad respiratoria crónica, la adaptación a la altura, etc., también se ha detectado una menor afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (44, 99, 162, 211, 251) que, en parte, parece ser un mecanismo compensador del organismo. Sin embargo, la magnitud del beneficio disminuye si el desplazamiento de la curva de saturación es excesivo, ya que entonces se menoscaba la carga de oxígeno a nivel pulmonar, fenómeno que es aún más marcado si coexiste con hipoxia alveolar (211, 258).

En otras situaciones clínicas se han detectado también desviaciones en la posición de la curva de disociación de la hemoglobina, tanto hacia la derecha —cirrosis hepática (13, 33), hipertiroidismo (13, 20, 87)— como hacia la izquierda —hipotiroidismo (102), intervenciones quirúrgicas en hipotermia (13)—.

En el recién nacido existe una mayor afinidad de la hemoglobina (HbF) por el oxígeno, lo cual se ha considerado como una gran ventaja desde el punto de vista fisiológico, ya que facilita el paso del gas a través de la placenta (47). Su origen lo discutiremos más adelante.

Las deficiencias enzimáticas en el metabolismo glicolítico del hematíe, de inducción genética, alteran la apetencia del pigmento respiratorio por el oxígeno al afectar la homeostasis del 2,3-DPG. Son clásicos los ejemplos de la deficiencia en hexoquinasa, con una p50 muy disminuida, y del déficit en piruvatoquinasa, en el que la p50 puede alcanzar valores del orden de 38 mm Hg (211).

Las anomalías genéticas en la estructura de la hemoglobina, generalmente debidas a la sustitución o a la ausencia de un solo aminoácido en una parte crítica de la molécula, pueden asociarse a una anomalía en la afinidad por el oxígeno. Ya lo habíamos comentado anteriormente. Conviene destacar ahora que este fenómeno puede ser el resultado bien de una mala cooperatividad entre los grupos heme o bien de una reactividad alterada con el 2,3-DPG (tal es el caso de la HbF) (13, 46, 211). La mala oxigenación de los tejidos, que suele ser su consecuencia, conduce a modificaciones en la secreción de eritropoyetina y, consiguientemente, a una eritrocitosis.

En la metahemoglobinemia, como sucedía en la carboxihemoglobinemia, los grupos heme se

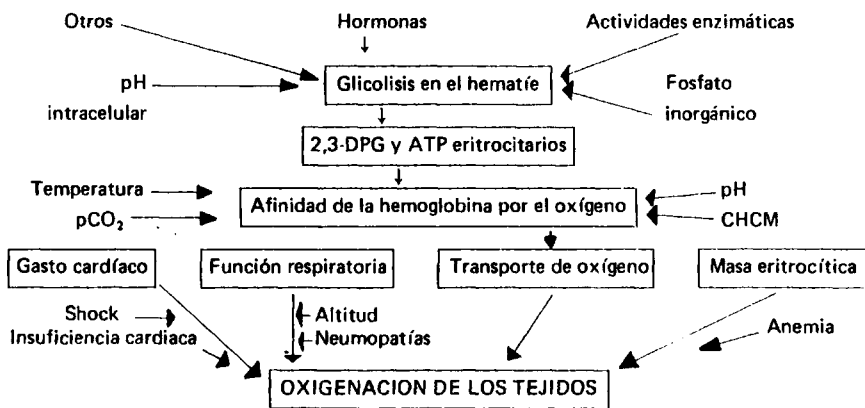
vuelven inactivos al no poder unirse al oxígeno. La curva de saturación se desplaza por ello, también aquí, hacia la izquierda (211).

Conviene destacar, finalmente, que los tratamientos con algunos agentes farmacológicos, como la aldosterona o el cortisol, aumentan la $p50$, es decir, desvían la curva de disociación hacia la derecha. Esto no sucede experimentalmente en incubaciones "in vitro" de hematíes con estos agentes (22).

III. La fisiología del transporte de oxígeno

El oxígeno forma parte fundamental del proceso metabólico mediante el cual el organismo produce la mayor parte de la energía necesaria para las reacciones biológicas. Para que se realice este proceso intracelular es necesario un complejo sistema que ponga en contacto el oxígeno atmosférico con la intimidad celular. Este complejo sistema se cumple a lo largo de una serie de fases que comprenden la captación y la difusión del oxígeno del alveolo al capilar pulmonar, y su posterior transporte por la sangre hasta los tejidos, bien dentro de los hematíes en combinación con la hemoglobina o bien en disolución en el plasma, movilizado en cualquiera de los dos casos por la bomba cardíaca, que a su vez precisa de un sistema vascular competente. Finalmente, el ciclo termina a nivel del capilar tisular donde el oxígeno difunde hacia las células para ser utilizado en las mitocondrias en la oxidación de los sustratos con la consiguiente producción de energía. Es decir, son necesarios muchos y distintos sistemas para que la oxigenación de los tejidos se lleve a cabo satisfactoriamente. Esquemáticamente podemos, sin embargo, identificar cuatro grandes grupos de factores: los respiratorios, los cardiocirculatorios, los hematológicos y los que dependen de la situación del transporte gaseoso en cada hematíe, es decir, de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno.

En el cuadro I se encuentran relacionados todos estos factores, pero en él hacemos especial mención de los mecanismos que influyen en el último, es decir, en la regulación del transporte de oxígeno por el eritrocito (41, 44, 74, 93, 104, 143, 167, 211, 225, 241, 243); ya los habíamos revisado en el apartado anterior. Todos los sistemas que intervienen en el aporte del gas respiratorio a los tejidos están integrados funcionalmente para mantener una pO_2 adecuada a las necesidades celulares. Cualquiera de ellos puede compensar, hasta cierto límite, un defecto en la función de los otros (41, 44, 83, 104, 191, 225, 241). Esta capacidad de adaptación está basada, preferentemente, en la posibilidad de modificar el volumen minuto cardíaco o la liberación del oxígeno por la hemoglobina. Algunos de los mecanismos a los que nos hemos referido proporcionan una adaptación inmediata a los cambios en los requerimientos del gas, mientras que otros son de instauración lenta (83, 104, 190, 211, 243). El incremento en la ventilación pulmonar y en el volumen minuto cardíaco pertenecen a la primera categoría; el aumento en la masa eritrocítica, mediado



Cuadro 1: Grupos de factores de los que depende un adecuado aporte de oxígeno a los tejidos. Modificado de Brewer (41).

por la eritropoyetina, a la segunda. Las variaciones en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno pueden catalogarse como mecanismos de adaptación intermedios (104, 225, 241). En cualquier caso, la finalidad es siempre la misma: mantener una pO_2 capilar suficientemente elevada como para que exista un gradiente de presión adecuado para la difusión del oxígeno desde los vasos a los orgánulos celulares (143, 190, 191, 211, 233, 243). La pO_2 mínima necesaria varía en cada caso de un órgano a otro y su valor no ha sido aún firmemente establecido (190, 241).

Por otra parte, los mecanismos de adaptación que aparecen en caso de hipoxia no actúan sobre la misma fase de la homeostasis del transporte de oxígeno; por el contrario, unos favorecen su liberación —bien inmediata, como es el caso del efecto Bohr, o bien a medio plazo, como lo es del 2,3-DPG—, otros aumentan la capacidad para acarrearlo —tal es lo que sucede con el aumento de la masa eritrocítica— y otros, finalmente, incrementan la oferta del gas —la elevación del gasto cardíaco y la redistribución del flujo vascular son claros ejemplos de ello— (83, 104, 125). Todo ello será analizado en detalle a continuación.

El aire atmosférico está compuesto por una mezcla gaseosa formada, esencialmente, por oxígeno (O_2), nitrógeno y gases nobles. El oxígeno representa en condiciones normales un 21 % del total. A una presión barométrica de 760 mm Hg la presión parcial del oxígeno (pO_2) atmosférico es de 159 mm Hg. Esta presión parcial disminuye progresivamente en el árbol respiratorio, el gas alveolar, la sangre arterial, los capilares, para alcanzar su nivel más bajo en las mitocondrias, donde finalmente es consumido. En ellas la pO_2 se encuentra normalmente entre 3 y 22 mm Hg y no puede ser inferior a 1 mm Hg (tensión crítica tisular de O_2). Por debajo de esta tensión crítica

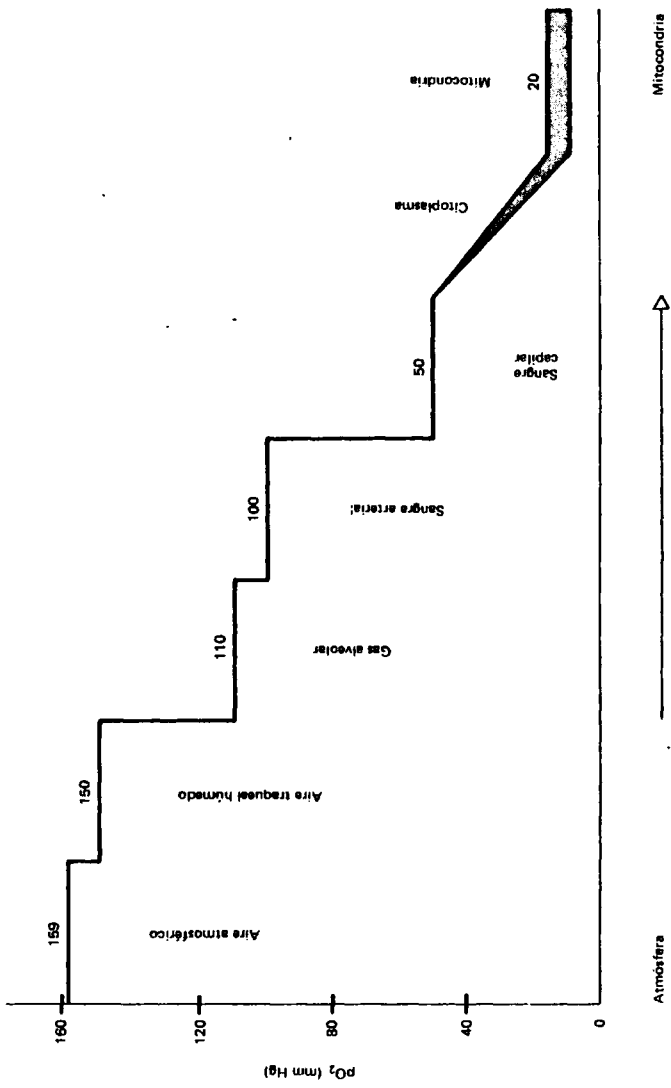
cesa el metabolismo aerobio y la fosforilación oxidativa. La caída progresiva del valor de la pO_2 desde el aire atmosférico hasta las mitocondrias recibe el nombre de cascada de oxígeno (Gráfica III) (104, 190, 233). En un pulmón ideal la pO_2 arterial y la alveolar serían iguales, es decir, no existiría ningún gradiente alveolo-arterial de O_2 . En la realidad, esto no es así; aunque el gradiente suele aproximarse a cero, valores hasta de 15 y 30 mm Hg pueden encontrarse en jóvenes y adultos desde los 50 años, respectivamente. El origen de este fenómeno se cifra en las pequeñas desigualdades que siempre existen en el cociente ventilación-perfusión y en la presencia de un cortocircuito intrapulmonar fisiológico. Ambos factores hacen caer a la pO_2 arterial (18).

El oxígeno, recogido en los pulmones del aire inspirado, es transportado por la sangre a los tejidos de dos formas totalmente distintas; la mayor parte, más del 98 %, lo hace en combinación química reversible con la hemoglobina, mientras que el resto lo hace en disolución física en el plasma (18, 90, 211). Si no fuera por la existencia de la hemoglobina la cantidad transportada sería tan pequeña que el volumen minuto cardíaco necesitaría aumentar veinte veces para mantener un aporte de oxígeno adecuado.

El oxígeno disuelto en el plasma constituye una forma física de transporte; su cantidad está ligada al coeficiente de solubilidad del gas en el líquido y es directamente proporcional a la pO_2 . En circunstancias normales, con una pO_2 de 100 mm Hg, se transportan así 0.3 mililitros (ml) de O_2 por 100 ml de sangre. Si consideramos que el consumo basal de este gas en un individuo en reposo es de 250 ml/minuto se requeriría un gasto cardíaco de unos 90 litros/minuto para subvenir a las necesidades normales de los tejidos si sólo existiera esta forma de transporte. A pesar de ello, el oxígeno disuelto tiene un papel fisiológico vital, ya que establece la pO_2 plasmática de la que depende la captación de oxígeno a nivel pulmonar y su difusión en la periferia.

Un gramo de hemoglobina puede fijar 1.34 ml de O_2 , por lo que la capacidad máxima de transporte en 100 ml de sangre, con una concentración normal de hemoglobina circulante (15 gramos/100 ml), es de unos 20.8 ml de O_2 . Este sistema constituye la base cuantitativa del transporte de oxígeno, ya que permite a la sangre llevar unas setenta veces más O_2 que el ligado a las leyes físicas que rigen la solubilidad del gas en el plasma. Ya que la concentración de hemoglobina es variable de unos individuos a otros, la cantidad de oxígeno combinada con ella se tiende a normalizar bajo la forma de un tanto por ciento, al referirla a la máxima cantidad de O_2 que puede unirse estequiométricamente con el pigmento en cada caso. Esta razón se denomina saturación de oxígeno (SO_2) (18, 211, 249). El contenido arterial de O_2 (CaO_2) es un valor que toma en consideración tanto los niveles de hemoglobina y su saturación como los de oxígeno disuelto en el plasma, por lo cual expresa su disponibilidad a nivel celular mucho mejor que cualquier otro parámetro.

En conjunto el transporte de oxígeno debe de permitir en el individuo sano en reposo un consumo medio de 10 milimoles de O_2 /minuto (4 ml/kg/minuto) (83, 94). En el sujeto vivo la cantidad total del gas que la sangre ofrece a los tejidos por minuto es una función del gasto cardíaco y



Gráfica III: Cascada de oxígeno.

del contenido arterial de O_2 , que, a su vez, depende de la concentración de hemoglobina, de su saturación y de una proporción setenta veces menor de gas disuelto en el plasma, tal y como acabamos de referir. Por ello, este aporte tisular de O_2 viene dado por la relación (104, 211, 233):

$$\text{Aporte } O_2 = G \text{ cardíaco} \times Hb \times SaO_2 \times 1.34 + 0.039 pO_2$$

(ml/min) (l/min) (g/l) (%) (ml/g Hb) (mm Hg)

Ya que el volumen minuto cardíaco suele ser de unos 5 l/minuto, el aporte total de oxígeno a los tejidos es de 1 litro/minuto. Este valor disminuirá notablemente si la saturación de la hemoglobina (SaO_2) no es del 100 % (211). Sin embargo, la cantidad total de O_2 transportada a los tejidos excede con mucho de la que es liberada, ya que en condiciones basales sólo se consume aproximadamente un 25 % del gas aportado. La cantidad liberada depende de múltiples factores (requerimientos de O_2 , capacidad de difusión, etc.); en definitiva el flujo de oxígeno en un instante determinado desde los capilares hacia las células de los tejidos se deduce de la ecuación:

$$\frac{O_2 \text{ liberado}}{dt} = D (pO_2 \text{ tisular} - pO_2 \text{ mitocondria})$$

D es el coeficiente de difusión del gas, que a su vez depende del de solubilidad en el tejido en cuestión y de la geometría del sistema (superficie de difusión y espesor). En la ecuación dada solamente la pO_2 es variable; el resto de los parámetros son prácticamente constantes. En los tejidos muy vascularizados una presión parcial capilar media de O_2 relativamente baja es suficiente para asegurar un aporte adecuado del gas a todas las células. Un tejido poco vascularizado depende, por el contrario, para su oxigenación de una pO_2 capilar elevada. Los valores de esta última se encuentran entre los de la pO_2 de la sangre arterial y los de la sangre venosa. La pO_2 arterial es la misma en todo el organismo y sólo es función, como ya hemos comentado, de la atmosférica y de la integridad de la fisiología pulmonar. La pO_2 venosa, sin embargo, varía de unos órganos a otros, ya que depende del volumen de oxígeno que es liberado a las células. El volumen de O_2 liberado por minuto (VO_2) se determina por la ecuación de Fick (167, 211):

$$VO_2 = G \text{ cardíaco} \times (CaO_2 - CvO_2)$$

El término entre paréntesis es la diferencia arteriovenosa de oxígeno y CvO_2 es el contenido venoso de O_2 . Su valor es normalmente de 15 ml/100 ml de sangre, por lo que la diferencia arteriovenosa suele ser de 5 ml de O_2 . El coeficiente de utilización del gas puede ser aumentado por el organismo cuando existen unos requerimientos metabólicos superiores, tal y como sucede, por ejemplo, durante el ejercicio físico intenso. El CvO_2 puede alcanzar niveles hasta de 5 ml/100 ml de sangre y por ello la diferencia arteriovenosa puede llegar a ser de 15 ml de O_2 . La reserva car-

díaca, por otra parte, permite aumentar el volumen minuto hasta cinco veces su valor habitual. La combinación de estas dos reservas funcionales consigue multiplicar por quince las posibilidades de consumo de O_2 en la periferia. De esta forma, la utilización habitual de 250 ml/minuto puede convertirse en 3750 ml/minuto. Existen además otros posibles mecanismos para mejorar el aporte de oxígeno a los tejidos, como pueden ser el aumento del flujo sanguíneo o de la concentración de hemoglobina. La caída en el CvO_2 , es decir, la elevación en la extracción de oxígeno, se consigue a través de la disminución de la afinidad de la hemoglobina por el gas; esto, a su vez, es función de la $p50$ y sus modificadores alostéricos (41, 104, 211, 233, 243, 249) y por lo tanto de la forma y la posición de la curva de disociación del pigmento respiratorio, ya que la utilidad funcional de la hemoglobina no depende sólo del volumen de O_2 que es capaz de transportar, sino también de la facilidad con que lo puede ceder a los tejidos (201).

La regulación de la masa eritrocítica se ejerce a nivel de su producción, es decir, en la eritropoyesis, por la hormona eritropoyetina, proteína con un peso molecular entre 30.000 y 60.000 daltons. El mantenimiento de una concentración relativamente elevada de hemoglobina es condición imperativa para que el suministro de O_2 a los tejidos sea óptimo (24, 104, 190, 242). La tasa de hemoglobina y el índice hematocrito se mantienen normalmente en unos niveles próximos a 15 gramos/100 ml (g %) y a 42 %, respectivamente; valores superiores, al aumentar la viscosidad de la sangre, hacen enormemente más lenta su circulación, con lo que la pO_2 capilar desciende y se instaura entonces, así, un círculo vicioso (83, 104). No es esto sino una expresión más del principio general de Fisiología que dice que lo normal en el organismo está siempre muy cerca de lo óptimo (104).

La modificación en la producción de hematíes parece ser el mecanismo que se sigue cuando las alteraciones en la oxigenación tisular son importantes, prolongadas y generalizadas. Pero, ya que este proceso de adaptación es de instauración lenta y sólo mejora la capacidad de transporte de oxígeno por la sangre a largo plazo, es habitual que antes aparezcan ajustes temporales de índole respiratoria y cardiocirculatoria que protegen a los tejidos hasta que se alcanza la nueva situación estacionaria. La hipoxia en determinados órganos sensores parece ser el estímulo adecuado que pone en marcha la respuesta eritropoyética medular (104).

Pero en el transporte del oxígeno no es sólo importante el aporte, sino también la distribución del flujo sanguíneo. Este se controla merced a un tono arteriolar apropiado en los distintos órganos de la Economía; las resistencias arteriolas regionales están variando continuamente, con lo que el flujo se distribuye en cada momento según las necesidades de los tejidos. Ello proporciona un mecanismo compensador rápido y flexible ante cualquier aumento en las demandas de O_2 , al modificar la distancia entre los capilares y las células y el volumen de sangre que las perfunde (104, 233). Parece ser que los reajustes en el número de capilares funcionantes, o lo que es lo mismo, la redistribución en el flujo sanguíneo, es la respuesta más común en la adaptación a las fluctuaciones locales en el grado de oxigenación de los tejidos. Este mecanismo contrasta con los

ya comentados cambios en la afinidad de la hemoglobina por el O_2 , que aparecen más tardíamente y ante variaciones más generalizadas y prolongadas en el aporte celular de oxígeno (104).

En resumen, los desórdenes clínicos que afectan al transporte de oxígeno pueden deberse a anomalías de su carga a nivel pulmonar, del flujo hemático, de la concentración de hemoglobina o de su afinidad por el gas. En todas estas categorías la capacidad máxima de transporte está reducida; las alteraciones consecuentes en el metabolismo celular modificarán de alguna manera, o bien pondrán en marcha, una serie de mecanismos compensadores que tratarán de alcanzar un nuevo estado estacionario (83, 104). En definitiva es ésta la homeostasis del transporte del oxígeno.

C. EL METABOLISMO GLICIDICO EN EL HEMATIE

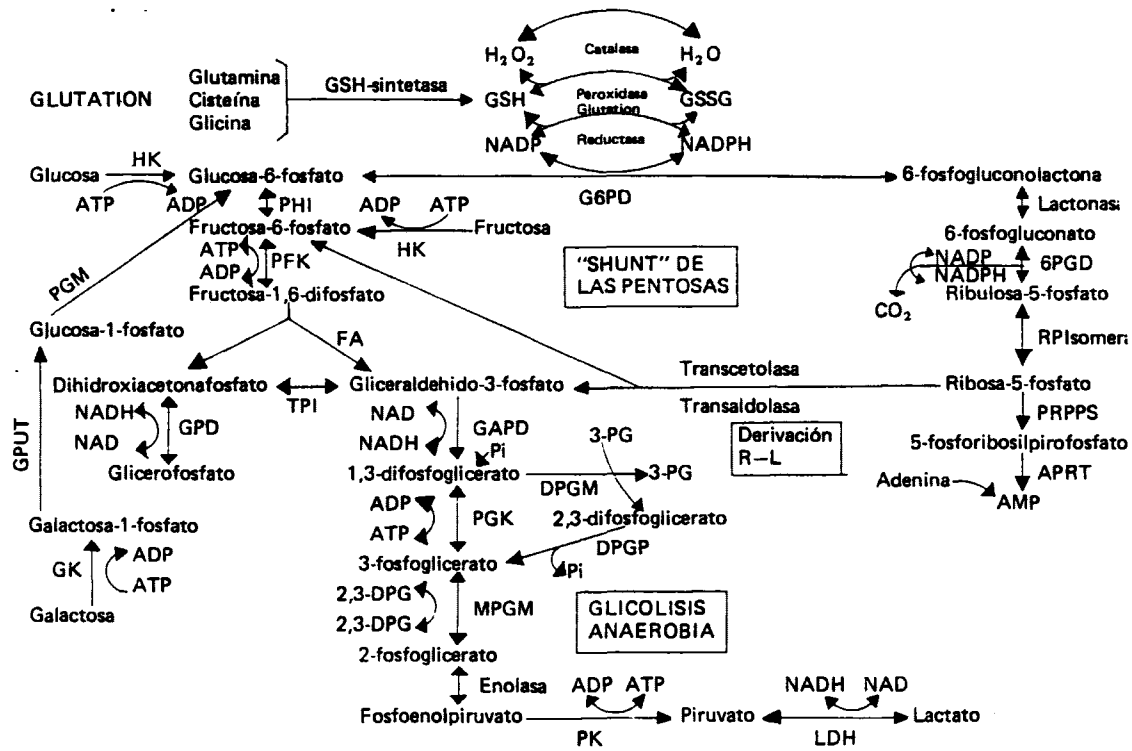
I. Generalidades

El eritrocito humano maduro normal ha perdido la capacidad de una fosforilación oxidativa. El consumo de oxígeno y la producción de CO_2 son muy escasos y sólo se efectúan en la derivación de las pentosas. La glucosa plasmática es la fuente principal de energía para el hematíe y su metabolismo es críticamente importante no sólo por ello, sino porque, además, a través de él se modula la función respiratoria de la hemoglobina. En condiciones basales la proporción de sustrato que sigue la vía de las pentosas ha sido evaluada en un 10 %, mientras que el 90 % restante se degrada por la vía glicolítica de Embden-Meyerhoff (40, 42, 44, 104, 125, 173).

Las funciones generales conocidas de la derivación de las pentosas en el hematíe incluyen la reducción del nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (NADP) y del glutatión oxidado (GSSG), así como la generación del fosforibosil-pirofosfato. El glutatión reducido (GSH) desempeña la función de mantener en situación de reducción a los grupos sulfhidrilos de la hemoglobina y de reducir al peróxido de hidrógeno, gracias al enzima glutatión peroxidasa (Cuadro II). En el hematíe maduro las pentosas-fosfato originadas en esta vía son metabolizadas hasta su inclusión nuevamente en la glicolisis anaerobia, circunstancia ésta distinta a la que sucede en otras células, en las que se emplean para la síntesis de los ácidos nucleicos (40, 104). La glicolisis anaerobia tiene una serie de funciones, al menos tres de ellas de gran importancia, que estudiaremos a continuación.

II. La glicolisis anaerobia. sus enzimas y su regulación

La glicolisis anaerobia o vía de Embden-Meyerhoff se acompaña en el eritrocito de la generación de tres importantísimas sustancias: el ATP, el 2,3-DPG y el nicotinamida-adenina-dinucleótido reducido (NADH). Ya que este elemento forme de la sangre no tiene capacidad para la fosforilación oxidativa por el sistema de los citocromos, la producción de ATP sólo se consigue en él a través de la glicolisis. El estudio del cuadro II permite apreciar cómo por cada molécula de glucosa transformada en lactato se produce una síntesis neta de dos moléculas de ATP. La función esencial de este compuesto, como comentaremos, parece ser la de proporcionar la energía necesaria para conseguir una adecuada relación entre el sodio y el potasio intra y extracelulares y mantener la forma bicóncava del eritrocito.



Cuadro II: Metabolismo glucídico en el hematíe. Abreviaturas en el texto. Modificado de Kleeberg y Heimpel (125).

La reducción del NAD a NADH se lleva a cabo en el paso catalizado por la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (Cuadro II). Esta reacción es la mayor fuente de NADH en el hematíe maduro normal (40). Su importancia deriva de su papel como cofactor de la enzima metahemoglobin-reductasa, responsable de la continua reducción de la metahemoglobina a la forma funcional del pigmento respiratorio. Efectivamente, este último tiende a oxidarse lentamente hacia una forma no funcional, en la que el hierro se encuentra en estado férrico.

Las funciones del fosfoéster 2,3-DPG las analizaremos en profundidad más adelante.

Después de diferentes pasos, tal y como se indica en el cuadro II, la vía glicolítica finaliza con la formación de piruvato y lactato. Ambas moléculas difunden libremente a través de la membrana del hematíe y sus niveles están probablemente en equilibrio con los del plasma.

En resumen, gracias a la vía glicolítica y por medio de la derivación en la que se sintetiza el 2,3-DPG ("shunt" de Rapoport y Lübering, como veremos), el hematíe consigue independizar la fosforilación no oxidativa del ADP a ATP de las funciones reductoras de la metahemoglobina (Cuadro II) (40, 125).

Quizá sea conveniente en este momento analizar algunos aspectos de las características más importantes de los enzimas glicolíticos, lo que nos ha de facilitar el estudio del metabolismo del 2,3-DPG, que efectuaremos más adelante. Una revisión más amplia puede encontrarse en el trabajo de Brewer (40).

La hexoquinasa (HK) habitual en el hematíe no es específica; puede utilizar a la fructosa, a la manosa o a la glucosa como sustratos, aunque el último es el preferente. Su coenzima es el ATP y la actividad del enzima es un factor regulador de la glicolisis en el eritrocito. Esta actividad no está limitada por la glucosa, pero sí es inhibida por su producto la glucosa-6-fosfato y por el ADP. La hexoquinasa es el enzima de menor capacidad, para transformar a su sustrato, de todos los de la vía glicolítica; ésta es sólo dos veces mayor que la actividad global de la glicolisis anaerobia, como puede demostrarse al estudiar su velocidad máxima en los hematíes normales (Cuadro III). En las exposiciones agudas y crónicas a la altura y en las anemias de diverso origen parece ser que la hexoquinasa interviene en la activación de la glicolisis, lo que conlleva la elevación en los niveles de 2,3-DPG propios de estas situaciones hipóxicas. La deficiencia genéticamente determinada en este enzima conduce a una anemia hemolítica congénita no esferocítica. Es una enfermedad severa con bajos niveles de ATP y de 2,3-DPG, como referiremos más tarde.

La fosfohexosaisomerasa (PHI) no parece probable que intervenga en la regulación de la vía de Embden-Meyerhoff. Su actividad, como en el caso anterior, decrece con el envejecimiento del hematíe.

La fosfofructoquinasa (PFK) es un enzima regulador clave de la glicolisis en la mayoría de las células y, a este respecto, el eritrocito no es una excepción. Depende particularmente del pH y aumenta notablemente su actividad cuando éste también lo hace. El ATP es al mismo tiempo su sustrato y su inhibidor alostérico. Su velocidad máxima, comparada con la de los otros enzimas,

Cuadro III: Actividades de los enzimas glicolíticos en micromoles de sustrato convertido por hora y por 1 ml de hematíes a 25° C. Tomado de Brewer (40).

HK	5	PGK	1910
PHI	151	MPGM	228
PFK	82	Enolasa	95
FA	31	PK	158
TPI	5100	LDH	1257
GAPD	800	Consumo global de glucosa	3

se muestra en el cuadro III. A pesar de su actividad relativamente grande en el individuo vivo es regulador de la glicolisis porque actúa en una situación de inhibición.

La fosfoaldolasa (FA) es la encargada de escindir el sustrato hidrocarbonado de seis carbonos en dos mitades de tres: la dihidroxiacetona-fosfato y el gliceraldehído-3-fosfato. No parece que este enzima tenga papel regulador alguno en la glicolisis, ya que su velocidad máxima es alta, unas diez veces mayor que la actividad general de la vía glicolítica.

La triosafosfoisomerasa (TPI) cataliza la interconversión de los dos productos de la reacción anterior. El sentido de la reacción va desde el primero hacia el segundo, al ser este último el sustrato para el siguiente paso metabólico. La TPI no tiene tampoco papel en la regulación de la glicolisis (Cuadro III).

La gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPD) tiene como coenzima al NAD, que se reduce en el curso de la reacción a NADH. Su producto es el 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG). Es éste un paso crítico en la vía de Embden-Meyerhoff al ser el NADH que aquí se forma el cofactor más importante en la reducción de la metahemoglobina en condiciones fisiológicas. Sus sustratos son el fosfato inorgánico (Pi) y el segundo producto de la reacción anterior. Ya que el fosfato sérico parece influir de alguna forma en la glicolisis del hematíe, se ha asumido que es este paso el punto donde ejerce su influencia, al ser el único lugar que requiere su presencia. Un mecanismo alternativo se efectuaría a través de una supresión de la inhibición que el ATP tiene sobre la PFK o que la glucosa-6-fosfato ejerce sobre la HK. Las deficiencias en fosfato probablemente limitan la actividad de la GAPD. El cociente NAD/NADH, que, en parte, depende de la relación entre el piruvato y el lactato, influye, lógicamente, sobre el paso metabólico controlado por este enzima.

La fosfogliceratoquinasa (PGK) tiene como sustratos al 1,3-DPG y al ADP. Sus productos son el 3-fosfoglicerato (3-PG) y el ATP. Es pues uno de los dos lugares donde se genera ATP en la glicolisis. El enzima compite con la difosfogliceratomutasa por el 1,3-DPG. Se conoce muy poco de los factores que intervienen en la orientación del sustrato en uno u otro sentido. Sin embargo,

estos factores son, obviamente, de la mayor importancia, ya que son los que, en definitiva, determinan los niveles relativos del ATP frente a los del 2,3-DPG en el hematíe. El ATP es, además, un inhibidor de la PGK (250). No parece que el paso metabólico controlado por la PGK sea regulador de la velocidad glicolítica general (Cuadro III).

La difosfogliceratomutasa (DPGM) tiene como sustrato al 1,3-DPG y su producto es el 2,3-DPG. El equilibrio de esta reacción está claramente desplazado hacia la formación del fosfoéster, a pesar de que el 2,3-DPG es un inhibidor competitivo de la DPGM, enzima que por otra parte tiene gran número de activadores e inhibidores (172). Sin embargo, no se conoce el mecanismo íntimo por el cual esta reacción está tan fuertemente desplazada hacia un lado, sobre todo si consideramos que en el hematíe existe una acumulación de grandes cantidades de 2,3-DPG. Se han descrito anemias hemolíticas congénitas no esferocíticas por deficiencia en DPGM (40), que cursan con niveles muy disminuidos del fosfoderivado. La patogenia de la hemólisis en estos casos no está clara y es difícil de comprender, ya que, por lo que sabemos en el momento actual, la reducción en la actividad de la DPGM conduce a concentraciones anormalmente bajas de 2,3-DPG, pero no a una disminución en la supervivencia de los hematíes.

La difosfogliceratofosfatasa (DPGP) tiene como sustrato al 2,3-DPG y como producto al 3-PG. La naturaleza de los factores que controlan "in vivo" su actividad no ha sido aún aclarada. Los elevados niveles de 2,3-DPG que existen en el eritrocito presumiblemente dependen de la situación de inhibición en que se encuentra el enzima. En el momento actual no nos es conocido si las variaciones en los niveles eritrocitarios del glicerofosfato se producen a través de modificaciones en la actividad enzimática de la DPGP. En cualquier caso, estos dos últimos pasos metabólicos que hemos comentado y que constituyen el ya citado ciclo de Rapoport y Lübering serán analizados con más detalle en el apartado siguiente. Aquí solamente los mencionamos para conferir una cierta homogeneidad a la exposición.

La monofosfogliceratomutasa (MPGM) tiene como sustrato al 3-PG y como producto al 2-PG. Requiere al 2,3-DPG como cofactor, por el que tiene gran afinidad; en circunstancias ordinarias no parece que este enzima influya en la regulación del flujo glicolítico eritrocítico ni en la tasa de 2,3-DPG. La MPGM tiene una actividad colateral no fisiológica de DPGP, en la que se basan algunos métodos analíticos del 2,3-DPG, como comentaremos más adelante.

La enolasa no parece jugar ningún papel importante en la regulación de la glicolisis anaerobia del hematíe.

La piruvatoquinasa (PK) tiene como sustratos al fosfoenolpiruvato (PEP) y al ADP y sus productos son el piruvato y el ATP. Este es, pues, el segundo punto donde se genera energía en la vía de Embden-Meyerhoff. Hasta este momento una molécula de glucosa que hubiera circulado directamente por este camino metabólico, sin utilizar ni el "shunt" del 2,3-DPG ni la derivación de las pentosas, habría consumido dos moléculas de ATP y generado otras dos. Es merced a este paso gobernado por la PK por el que se obtiene un beneficio neto de dos moléculas de ATP por cada

seis átomos de carbono metabolizados (Cuadro II). Este enzima, al ser el "tercer cuello de botella", desempeña un papel de gran importancia en la regulación de la glicolisis en el hematíe. Parece ser que se activa de manera alostérica por la fructosa-1,6-difosfato y que requiere para su funcionamiento altos niveles de potasio. Se inhibe por el ATP, que compete con el PEP. El fosfato inorgánico también activa al enzima, fenómeno similar al que sucedía con la PFK. La deficiencia genéticamente determinada en PK fue el primer déficit enzimático eritrocitario identificado como causa de anemia hemolítica congénita no esferocítica, de la que es, además, la causa etiológica más común. La severidad del cuadro clínico es variable; parece que son los hematíes las únicas células afectadas por el defecto enzimático. Cursa con una serie de alteraciones metabólicas entre las que destacan unas concentraciones disminuidas de lactato, piruvato y ATP y elevadas de PEP, 3-PG y 2,3-DPG; la utilización de la glucosa, como es fácil deducir, está también descendida. Los altos niveles de 2,3-DPG propios de esta enfermedad permiten una buena tolerancia de la anemia, indudablemente mayor que en otras enzimopatías (26).

La lactatodeshidrogenasa (LDH) es el último enzima de la vía glicolítica del eritrocito. Cataliza la reacción del piruvato al lactato en ambos sentidos. El NADH se oxida a NAD cuando el piruvato se transforma en lactato. Ambos compuestos se intercambian libremente con los del plasma, ya que difunden a través de la membrana citoplasmática. En condiciones normales la distribución del lactato entre el hematíe y el plasma se realiza según el equilibrio de Gibbs-Donnan, cosa que no sucede con el piruvato, posiblemente porque éste es oxidado intracorpúscularmente de forma continua por la LDH.

Control de la glicolisis en el eritrocito

Las reacciones enzimáticas catalizadas por la HK, la PFK y la PK son las responsables, al estar lejos del equilibrio termodinámico, del control glicolítico general del hematíe. Es decir, sobre estos tres enzimas se ejercen por diversos factores una serie de influencias, tanto negativas como positivas, cuyo resultado es una modificación en el flujo glicolítico. Como ya hemos referido, las actividades enzimáticas de los diversos enzimas de la vía de Embden-Meyerhoff exceden, al menos en un orden de magnitud, a la velocidad global del consumo de glucosa, excepto en el caso de la HK. En efecto, la HK tiene una capacidad máxima de sólo unas dos veces la del flujo glicolítico general (Cuadro III) (40, 41, 42, 96, 173). Pero parece evidente que este flujo no debe depender solamente de las diversas actividades enzimáticas, potencialmente muy superiores, como acabamos de comentar, a la intensidad habitual de la glicolisis anaerobia, sino que debe de estar regulado, además, por la concentración real intraeritrocitaria de los distintos sustratos, cofactores y efectores, tanto negativos como positivos, de cada paso metabólico; la temperatura y el pH del medio también han de ser de una importancia fundamental (96). Parece, pues, por ello bien claro que la derivación de Embden-Meyerhoff está controlada, parcialmente al menos, por diversos mecanismos que actúan sobre sus enzimas reguladores. Algunos de estos mecanismos, por tener cier-

ta importancia por su repercusión sobre el 2,3-DPG, serán revisados a continuación.

1) El pH intracelular es un factor de la máxima importancia en el control de la glicolisis eritrocitaria. Parece ser que su mayor efecto se ejerce sobre la PFK, cuyo pH óptimo se sitúa alrededor de 8.0. Al aumentar el pH lo hace también el flujo glicolítico. Algo parecido sucede con la HK, cuyo pH óptimo está también próximo a 8.0, por lo que se activa asimismo con la alcalosis, aunque en menor grado que la PFK. La respuesta pH-dependiente de este último enzima se encuentra influida por diversos factores, como pueden ser: su sustrato, la fructosa-6-fosfato o el ATP, que es a la vez sustrato e inhibidor alostérico a niveles fisiológicos. Otros factores parecen ser el ADP y los iones magnesio y potasio (40, 42, 104).

2) El fosfato inorgánico (Pi) tiene un efecto muy importante "in vivo" sobre el metabolismo del hematíe humano normal. El "pool" de fosfato inorgánico intraeritrocitario se encuentra en estrecha dependencia con la concentración de fosfato plasmático, ya que este anión penetra en el eritrocito por difusión pasiva. Por ello, cualquier cambio en el fosfato intracelular repercute invariablemente en el extracelular y a la inversa (137).

El mecanismo por el que un incremento en el Pi aumenta el flujo glicolítico no es totalmente conocido. Parece ser que su acción se ejerce primariamente por influencias moduladoras sobre la PFK y la GAPD y en menor proporción sobre la HK (41, 42, 137, 230). El fosfato inorgánico parece reducir la inhibición que el ATP induce sobre la PFK (41, 230). La HK y la PK pudieran estimularse de forma secundaria al disminuir el producto de la primera y al aumentar el sustrato de la segunda (137), o quizá, también, por un efecto activador directo, sobre todo a pH bajo, del Pi (41).

3) Los controles particulares sobre los enzimas reguladores mencionados también modulan la glicolisis eritrocitaria. Sobre la HK el máximo efecto controlador lo ejerce su producto, la glucosa-6-fosfato, que la inhibe. Al estar el enzima saturado por su sustrato —la glucosa—, su actividad se encuentra limitada, al menos parcialmente, por su cosustrato —el ATP—, el cual, por el contrario, no está a concentraciones saturantes en el hematíe. Las diversas circunstancias que modifican los niveles normales de ATP actúan indirectamente, por ello, sobre la HK. El ion magnesio, el 2,3-DPG y el fosfato inorgánico son efectores de esta quinasa (41, 42). Parece ser que la inhibición que el 2,3-DPG induce sobre la HK se reduce cuando se incrementan los niveles del ATP (42, 44).

La PK no se encuentra saturada con respecto a sus dos sustratos, el ADP y el PEP. Se inhibe fuertemente por su producto y requiere para su actividad altos niveles de ion potasio.

La actividad de la PFK se incrementa al hacerlo el cociente ADP/ATP (25).

4) El cociente NAD/NADH parece estar en relación con la regulación de la mitad inferior de la vía glicolítica, sobre todo en aquellos casos en los que el flujo en la mitad superior se encuentra alterado, con las consiguientes variaciones en las tasas de las triosas-fosfato. En estas circunstancias la disponibilidad del NAD limita la actividad de la GAPD (228).

5) La influencia de la derivación de las pentosas-fosfato sobre el flujo glicolítico ha sido poco estudiada. Esta derivación evita el paso por la reacción controlada por la PFK, por lo que su aceleración repercute indudablemente sobre la mitad inferior de la vía glicolítica; de esta forma puede contribuir a incrementar los niveles de ATP y de 2,3-DPG. La posibilidad de que el "shunt" de las pentosas varíe su flujo, en los casos en los que las tasas de estos dos metabolitos están modificadas, no ha sido aún estudiada, pero su existencia parece indudable al haberse comprobado que, tanto la inosina como el azul de metileno, incrementan los niveles del 2,3-DPG, "in vivo" e "in vitro" (41, 228).

6) Se han descrito efectos de diversas hormonas sobre la glicolisis anaerobia eritrocitaria y sobre las concentraciones del 2,3-DPG, pero su mecanismo e importancia relativa no han sido aún aclarados (41). Más adelante lo comentaremos detenidamente en lo que respecta al fosfoéster.

7) Se han publicado diferencias genéticas en la actividad de los enzimas glicolíticos, sobre todo en los que son reguladores en el hematíe, que pudieran contribuir a determinar algunas de las variaciones que se han observado entre la población normal. Es este un terreno que, realmente, está aún por investigar (41).

8) El 2,3-DPG parece tener un efecto de retroalimentación negativa sobre la glicolisis eritrocitaria en general. La HK, la DPGM y la PFK se inhiben por el 2,3-DPG, aunque la importancia fisiológica de este hecho no es totalmente conocida (41, 230). Cuando aumentan los niveles de la desoxihemoglobina en el hematíe, como sucede en diversas situaciones de hipoxia, disminuye la inhibición enzimática del 2,3-DPG sobre las quinasas glicolíticas, al unirse el metabolito libre con la hemoglobina reducida. Al levantarse el freno metabólico tienden a restaurarse los niveles normales del glicerofosfato libre o no ligado al pigmento respiratorio, con lo que el "pool" intraeritrocitario total del 2,3-DPG aumentará. Por este mecanismo se regulan, al menos parcialmente, las concentraciones del fosfoéster (41); lo comentaremos más adelante.

III. Otras rutas metabólicas: la derivación de las pentosas, la vía de la galactosa, el metabolismo de las purinas y del glutatión

1. La derivación de las pentosas

El "shunt" de las pentosas-fosfato consume normalmente sólo una pequeña parte —un 10 %— de la glucosa metabolizada por el hematíe. Esto no significa, sin embargo, que carezca de importancia. Su normal funcionamiento es crucial para la supervivencia del eritrocito y su interrupción conduce con gran frecuencia a situaciones de hemólisis. En esta derivación se produce la única conversión metabólica que en el hematíe maduro normal consume oxígeno y genera CO₂ (Cuadro II). En condiciones normales las pentosas formadas sólo son recicladas en una muy pequeña proporción, pero ésta puede ser incrementada hasta en más de un 50 % ante la presencia de agentes oxidantes (ácido ascórbico, azul de metileno). Por cada tres pentosas que se consumen por esta vía metabólica, sin que se produzca su reciclado, se generan cinco moléculas de ATP ne-

tas. Este hecho no resulta evidente a la vista del cuadro II, pero se debe a la entrada en la glicolisis de Embden-Meyerhoff de los fragmentos de las pentosas formadas.

El "shunt" de las pentosas-fosfato tiene al menos dos funciones de gran importancia en el eritrocito maduro normal: la reducción del NADP y la producción del 5-fosforibosilpirofosfato (5-PRPP).

El NADPH puede ser utilizado como sustrato por la metahemoglobina-reductasa (diaforasa II), aunque su importancia, comparada con la de la reductasa NADH-dependiente (diaforasa I), parece ser pequeña; del NADPH formado en el ciclo de las pentosas poco se utiliza con este fin. La otra función del NADPH es mucho más importante: actúa como coenzima principal de la glutatión-reductasa, que mantiene en forma reducida al glutatión (Cuadro II) (41, 76). Por cada molécula de glucosa que se desvía por la derivación de las pentosas-monofosfato se producen dos moléculas de NADPH desde el NADP (104). No se conoce ninguna ruta metabólica en el hematíe que pueda convertir a este NADPH - tampoco al NADH- en energía bajo la forma de ATP, porque se carece de los enzimas necesarios para la fosforilación oxidativa. Sin embargo, ambos compuestos son una fuente muy importante de potencial reductor (104).

El 5-PRPP se utiliza para la síntesis de nucleótidos de adenina, como discutiremos más adelante.

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) es el enzima crucial del "shunt" y quizá el limitante de su actividad. Al pasar la glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconolactona reduce el NADP a NADPH, el cual, como ya hemos indicado, es empleado a su vez para la reducción de glutatión (Cuadro II). El resto de los enzimas de la derivación de las pentosas-fosfato es mucho menos conocido. El tercer enzima de esta vía, la 6-fosfogluconato deshidrogenasa (6PGD), es el responsable de la reducción de la segunda molécula de NADP y de la conversión de una hexosa, el 6-fosfogluconato, en una pentosa, la ribulosa-5-fosfato. En este paso se libera, ya lo hemos dicho, la única molécula de CO₂ generada en el hematíe maduro normal (Cuadro II) (76).

El eritrocito está expuesto a una magnitud de tensión de oxígeno difícilmente soportada por ninguna otra célula del organismo. El "shunt" de las pentosas representa un mecanismo defensivo de primera línea contra la constante oxidación. Su actividad consigue mantener en estado reducido a casi todo el glutatión al generar el NADPH necesario para ello, que incluso sirve como sustrato de la NADPH-metahemoglobina-reductasa. Diversos factores fisiológicos pueden afectar a esta actividad: el ATP, el oxígeno, el GSSG, el NADP, el ion magnesio, el ácido ascórbico y el 2,3-DPG. Cuando este último aumenta se inhibe la actividad del ciclo de las pentosas (76).

2. La vía de la galactosa

El eritrocito humano tiene capacidad para metabolizar a la galactosa, bien a través de la glicolisis anaerobia o bien por medio del "shunt" de las pentosas, a partir de la glucosa-6-fosfato; a este metabolito se llega gracias a enzimas como la galactocinasa (GK), la galactosa-1-fosfato-

uridil-transferasa (GPUR) y la fosfoglucomutasa (PGM). Este último enzima conecta la vía de la galactosa con la glicolítica (Cuadro II) (40).

3. El metabolismo del glutatión

Aunque el glutatión es un tripéptido (8-L-glutamil-L-cisteinil-glicina) su estudio debe de realizarse en el capítulo de los glúcidos por su estrecha relación con ellos. El glutatión, tanto en su forma reducida (GSH) como en la oxidada (GSSG), debe de ser sintetizado de forma constante en el hematíe, ya que es conocido el hecho de que ninguna de las dos formas puede atravesar la membrana citoplasmática para entrar en él. Sin embargo, el GSSG sí puede salir. El eritrocito dispone de los dos enzimas necesarios para esta síntesis "de novo": la glutamil-cisteína-sintetasa y la glutatión-sintetasa. El glutatión reducido cumple diversas funciones. Protege a la hemoglobina contra la oxidación y la eventual formación de cuerpos de Heinz, al mantener a los grupos sulfhidrilos en estado reducido. Esta misma misión antioxidante la ejerce también con idénticos grupos en la membrana eritrocitaria. El glutatión también protege de forma efectiva contra los peróxidos al detoxicar al H_2O_2 , merced a la glutatión-peroxidasa. Esta función es similar a la que desempeña la catalasa. Entre ambos enzimas protegen al hematíe del daño oxidativo. El glutatión oxidado, formado en estos procesos metabólicos, es reducido nuevamente gracias a la glutatión-reductasa, que utiliza en un 80 % al NADP (en el 20 % restante al NAD) como sustrato (Cuadro II). Puede suceder que, cuando el "shunt" de las pentosas no sea capaz de prevenir la oxidación con la formación del suficiente NADP, la glutatión-reductasa utilice el sistema NAD/NADH. Ello conlleva, como referiremos después, un incremento en la formación del 2,3-DPG. Este es el sentido en el que se explica que la administración crónica de agentes oxidantes conduzca a un aumento en la concentración del fosfoéster y por el que se podría comprender la interacción del "shunt" con la glicolisis anaerobia en el hematíe (41, 76).

4. El metabolismo de las purinas

Incluimos aquí este apartado por la íntima relación del metabolismo de las purinas con el de los glúcidos en el eritrocito.

No parece que el hematíe maduro normal pueda sintetizar "de novo" los nucleótidos de adenina o los nucleósidos relacionados, debido a su carencia en los enzimas apropiados de los que depende esta capacidad: la adenilsuccinato-sintetasa (ASS) y la adenilsuccinasa (AS). No está claro el mecanismo de mantenimiento de los adenin-nucleótidos en el eritrocito a la vista de la ausencia de esta síntesis "de novo". El AMP puede ser formado también por la acción de la adeninfosfori-

bosil-transferasa (APRT) a partir de la adenina y del 5-fosforibosil pirofosfato (5-PRPP). Este último se sintetiza en el hematíe desde la ribosa-5-fosfato —que proviene del "shunt" de las pentosas— gracias a la reacción catalizada por la ribosafosfato-pirofosfoquinasa o fosforibosil-pirofosfato-sintetasa (PRPPS) (Cuadro II). Sin embargo, no parece que la adenina se encuentre disponible para el glóbulo rojo, ya que sus niveles plasmáticos no son detectables en el sujeto normal. La adición de adenina a la sangre conservada parece ser que favorece el mantenimiento de los niveles de ATP, como discutiremos más adelante.

El AMP puede también sintetizarse desde la adenosina y el ATP gracias a la adenosínquinasa. Pero tampoco están claras las posibles fuentes de adenosina para el hematíe.

La vía glicolítica consume y genera ATP, con un balance neto positivo de dos moléculas por molécula de glucosa metabolizada, tal y como ya dijimos al referirnos al ciclo de Embden-Meyerhoff. Sin embargo, en éste no se utiliza el AMP para convertirlo en compuestos con mayores niveles de fosforilación. Estos últimos, por el contrario, se consiguen merced al enzima adenilatoquinasa, que genera dos moléculas de ADP sobre la base de emplear una de AMP y otra de ATP, que a su vez procede de la glicólisis anaerobia. En esta vía metabólica sí se utiliza directamente el ADP.

En el hematíe existen dos sistemas de ATP-asa, ambos ligados a la membrana. El primero requiere la presencia de iones potasio, sodio y magnesio para su actividad (S-ATP-asa). Sus sustratos son el ATP, el potasio extracelular y el sodio intracelular. Mantiene los altos niveles intracelulares del primero y expulsa al segundo del interior del eritrocito contra un gradiente de concentración. No es conocido el motivo por el cual ha de mantenerse esta situación electrolítica en el glóbulo rojo.

El segundo sistema ATP-asa precisa de la existencia de iones calcio y magnesio (I-ATP-asa). Interviene en el mantenimiento de la forma del hematíe y en la deformabilidad de la membrana.

La caída en los niveles de ATP conduce a la esferocitosis y a la pérdida de esta deformabilidad, y, en definitiva, a la disminución de la supervivencia de los eritrocitos. Esta propiedad parece ser independiente del transporte de cationes a través de la membrana (40, 104).

IV. Importancia del ATP y del sistema NAD/NADH

1. Funciones del ATP en el hematíe

El ATP desempeña un número importante de funciones en el eritrocito maduro normal, que enumeraremos a continuación.

- a) Participación en la fosforilación de algunos azúcares, esencialmente de la glucosa, en los pasos iniciales de la glicólisis, gracias a la HK y la PFK, las cuales precisan de los fosfatos de alta energía para cumplir su misión.
- b) Participación en el transporte de iones sodio y potasio a través de la membrana del hematíe,

al proporcionar la energía necesaria para ello y gracias a la S-ATP-asa, como acabamos de comentar. La impulsión de estos iones contra gradiente necesita la energía que suministra el ATP; el 15 % del ATP total se emplea en esta función.

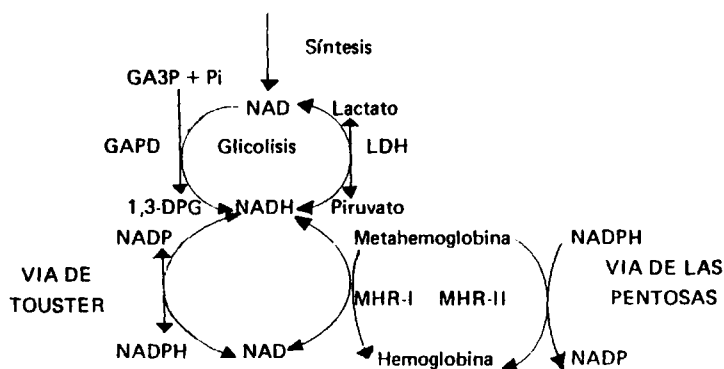
- c) Mantenimiento de la deformabilidad y de la forma bicóncava normal del hematíe, como se desprende de la íntima relación que existe entre las tasas intraeritrocitarias de ATP y esta deformabilidad. Gracias a esta propiedad, que depende de diversos factores —formación de cuerpos de Heinz, polimerización de la hemoglobina, características de la membrana—, el hematíe puede circular por el lecho capilar. Para la conservación de las propiedades de la membrana es esencial que se mantengan unos niveles normales de ATP. Cuando éstos disminuyen, el glóbulo rojo manifiesta una clara tendencia a volverse esférico, con lo que pierde su deformabilidad. Los mecanismos bioquímicos por los que el ATP actúa sobre la membrana no son conocidos, pero parece que se ejercen a través de la I-ATP-asa.
- d) Unión a la hemoglobina con la consiguiente disminución de su afinidad por el oxígeno. Esta función es similar a la que ejerce el 2,3-DPG, como comentaremos más adelante. Las aptencias de estos dos compuestos por la desoxihemoglobina parecen ser superponibles. El efecto del ATP es cuantitativamente menos importante porque su concentración intraeritrocitaria es aproximadamente una cuarta parte de la del 2,3-DPG. Presuntamente, el ATP tiene con la hemoglobina reducida los mismos puntos de unión que los que con ella tiene el fosfoglicerato.
- e) Intervención en la síntesis de los nucleótidos de purinas y pirimidinas.
- f) Participación en la regulación del flujo glicolítico al actuar como inhibidor alostérico de la PFK. Esta inhibición es pH- dependiente y se atenúa cuando aumenta el fosfato inorgánico. El ATP también parece inhibir a la PK y a la PGK.
- g) Mantenimiento del "turn over" lipídico.

Los niveles normales de ATP en el hematíe son variables de unos sujetos a otros, aunque en el mismo individuo son una característica bastante constante a lo largo del tiempo, siempre y cuando no exista hipoxia o algún otro trastorno o enfermedad. Esto sugiere que las concentraciones eritrocitarias de ATP se encuentran bajo control genético, como parece poder deducirse de las diferencias que existen entre las distintas razas. Un incremento en las tasas de ATP por encima de ciertos límites sería fatal para el metabolismo eritrocítico normal, al inhibirse el funcionamiento de la vía glicolítica. De ahí la gran importancia, ya comentada, del ciclo de Rapoport y Lübering (41, 104, 202, 250).

2. El sistema NAD/NADH

En el hematíe existen diversas enzimas y sistemas enzimáticos relacionados con el NAD y el NADH. La importancia de estos metabolitos es considerable y por ello el NAD debe ser sintetiza-

do de forma constante por el eritrocito. La disponibilidad del NAD es uno de los factores limitantes de la glicolisis a nivel del paso controlado por la GAPD. La relación entre el NAD y el NADH está determinada, al menos parcialmente, por la que existe entre el lactato y el piruvato. Otro mecanismo para la reducción del NAD en el hematíe se cumple a través de la llamada vía de Touster, que en esencia consiste en la oxidación del NADPH. Esta vía da al glóbulo rojo una gran flexibilidad en la conversión de ambos tipos de coenzimas, según las necesidades de cada momento (Cuadro IV). El NADH generado por cualquiera de los dos procedimientos es de gran importancia para la reducción de la metahemoglobina. Es éste un pigmento en el cual el hierro del grupo heme desoxigenado se encuentra oxidado a su forma férrica y, por tanto, es incapaz de realizar ninguna función respiratoria. La hemoglobina funcionante es oxidada de manera constante en el hematíe, en una proporción diaria de un 3 % aproximadamente; la metahemoglobina, no funcionante, podría acumularse hasta unos límites que constituyeran un serio problema fisiológico —tal sucede en las metahemoglobinemias, congénitas y adquiridas— si no fuera porque es reducida continuamente por mecanismos específicos, de tal forma, que su concentración apenas alcanza un 2 % del total de la hemoglobina en el sujeto normal. Los mecanismos específicos responsables son las metahemoglobina-reductasas I (utiliza como cofactor al NADH y es la más importante) y II (emplea al NADPH) (MHR-I y MHR-II) (Cuadro IV) (40, 41, 104).



Cuadro IV: Sistema del NAD/NADH. Explicación en el texto. Modificado de Brewer (40).

Finalmente, el sistema NAD/NADH interviene también como coenzima secundario de la glutatión-reductasa (41).

D. ESTUDIO GENERAL DEL 2,3-DIFOSFOGLICERATO INTRAERITROCITARIO

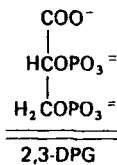
I. Recuerdo histórico

La existencia en el hematíe de unos niveles francamente elevados del intermediario glicolítico 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) es un hecho conocido desde los pioneros estudios de Greenwald (101) en 1925. A partir de este descubrimiento, estas altas concentraciones, que casi igualaban a las de la hemoglobina en el interior del eritrocito, llamaron la atención de los investigadores. Ante su aparente falta de función el porqué de este hecho permaneció como un enigma durante largo tiempo (93, 250). La sorprendente cuantía y la localización casi exclusivamente eritrocitaria del compuesto no fueron comprendidas hasta 1967, cuando dos grupos de trabajo (27, 52), de forma simultánea, pero independiente, descubrieron que el 2,3-DPG ejercía una importantísima acción sobre la molécula de la hemoglobina y más concretamente sobre su función respiratoria. La acción era de tal naturaleza que conseguía que el pigmento respiratorio en solución, con una enorme afinidad por el oxígeno, se comportase como cuando se encontraba en el interior del hematíe al alcanzar el 2,3-DPG añadido concentraciones similares a las intracorpúsculares. Es decir, parecía como si el intermediario glicolítico eritrocitario, hasta entonces sin función conocida, influyese de alguna manera en la interacción de la hemoglobina con el oxígeno y consiguiera que ésta fuera más eficaz o "fisiológica" para el organismo; en efecto, la simple presencia del 2,3-DPG liberaba al oxígeno del pigmento respiratorio, con lo que podía suponerse que con ello se mejoraría la oxigenación de los tejidos. El paso siguiente se dio al demostrar cómo, a través de variaciones en las concentraciones del metabolito, el hematíe regulaba la afinidad de la hemoglobina por el gas (26, 28, 30, 43, 46, 133, 145, 161, 162, 217, 228, 244). Fueron éstas las primeras evidencias de una clara relación entre el metabolismo y la función del eritrocito. Desde entonces el camino recorrido ha sido importante y las investigaciones, cada vez más numerosas, han desbordado los límites de la Hematología para interesar a otras especialidades de la Medicina. Efectivamente, el 2,3-DPG intraeritrocitario ha comenzado a ser estudiado en diversas entidades clínicas en el ámbito de la Medicina Interna, con un interés que va más allá del estrictamente académico para tenerlo también fisiopatológico, diagnóstico e incluso pronóstico y terapéutico. En el momento actual resulta imprescindible un profundo conocimiento de sus propiedades bioquímicas para poder entender adecuadamente su función en el hematíe y sus posibles aplicaciones en la Clínica humana.

II. El metabolismo del 2,3-DPG en el hematíe

1. Características bioquímicas del 2,3-DPG

El 2,3-DPG es, desde el punto de vista de la terminología, el D-glicerato-2,3-difosfato. Su fórmula semidesarrollada es (134):



Su peso molecular es de 266 daltons y su tamaño de 9 Å (44, 134). Es un polianión no difusible, portador de cuatro cargas negativas a pH neutro (25, 28, 250).

El 2,3-DPG es un intermediario glicolítico que se encuentra en cantidades despreciables en las células de los diversos tejidos; sólo son detectables las cantidades justas requeridas por su papel como cofactor de la MPGM (42, 44, 134, 195). Sin embargo, se acumula en los glóbulos rojos de ciertas especies animales, gracias, como ya explicamos, a una vía metabólica particularmente activa en estos elementos: el ciclo de Rapoport y Lübering, derivación colateral de la glicolisis anaerobia, descrita por estos autores (179, 180) entre los años 1950 y 1951 (Cuadro II). En los hematíes de la mayoría de los mamíferos el 2,3-DPG es el componente ácido-soluble principal (195), ya que su cuantía oscila entre el 60 y el 75 % del total de los fosfatos orgánicos intraeritrocitarios (134, 163, 235, 249), como se puede apreciar en el cuadro V modificado de Leroux y Najman (134).

Cuadro V: Fosfoderivados intraeritrocitarios. Resultados de 30 determinaciones expresadas en nanomoles/mililitro de hematíes. Modificado de Leroux y Najman (134).

Glucosa-6-fosfato	31.3	Adenosintrifosfato	1527.0
Fructosa-6-fosfato	9.7	Adenosindifosfato	170.0
Fructosa-1,6-difosfato	3.8	Adenosinmonofosfato	30.0
Triosas fosfato	19.2	2,3-difosfoglicerato	4580.0
3-fosfoglicerato	66.3	Fosfato orgánico total	6563.9
2-fosfoglicerato	11.8	Fosfato inorgánico	477.0
Fosfoenolpiruvato	17.4	<u>2,3-difosfoglicerato</u>	
Glucosa-1,6-difosfato	97.4	Fosfato orgánico total	x 100..... 69.7

Entre los mamíferos el 2,3-DPG es especialmente abundante en los eritrocitos humanos, del cerdo y de la rata. Está ausente en la cabra y en el buey (40, 250) y también en las aves y en los reptiles (235). Este fosfoéster puede detectarse en mínimas cantidades en circulación libre en el plasma, procedente, lo mismo que el ATP, de la hemólisis diaria normal. En el curso de procesos hemolíticos este 2,3-DPG plasmático, lógicamente, debiera aumentar (33), pero esto no ha sido aún demostrado.

2. La síntesis y la degradación del 2,3-DPG

El 2,3-DPG se sintetiza y se degrada por medio de una derivación metabólica de la glicolisis anaerobia del hematíe —la vía de Rapoport y Lübering (103, 104)— que evita el paso por la reacción catalizada por la PGK (Cuadro II y VI) (25, 28, 40, 125, 163, 173, 201, 250). La síntesis se realiza a partir del 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG) por la acción irreversible del enzima difosfoglicerato mutasa (DPGM) (179). El 2,3-DPG así formado es hidrolizado por una fosfatasa específica (DPGP) a un monofosfoglicerato (180). Estos enzimas han sido estudiados, obtenidos y purificados de hematíes humanos por Rose (195).

La DPGM (1,3-difosfo-D-glicerato: 3-fosfo-D-gliceratofosfotransferasa, EC 2.7.5.4) cataliza una transferencia irreversible intermolecular de un grupo fosfórico según la reacción:

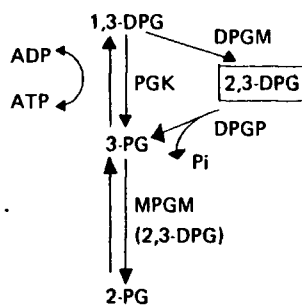


La DPGM tiene una alta afinidad por sus sustratos y se inhibe por altos niveles de su producto, el 2,3-DPG. La inhibición competitiva observada entre el 1,3-DPG y el 2,3-DPG por la DPGM indica que ambos reaccionan con la misma zona del enzima. En el hematíe su actividad está determinada principalmente por las concentraciones de ambos metabolitos. No parece probable, por el contrario, que los niveles del 3-PG ni del 2-PG tengan influencia alguna (25, 125, 172, 173, 195, 201).

La DPGP (2,3-difosfo-D-glicerato: 2-fosfohidrolasa, EC 3.1.3.13) es una fosfatasa específica para el 2,3-DPG. Se activa de forma clara con el compuesto 2-fosfoglicolato, característica ésta que ha sido aprovechada en algunos métodos de determinación enzimática del 2,3-DPG, como comentaremos enseguida. La escisión del fosfato del segundo carbono del fosfoglicerato por la DPGP devuelve al sustrato a la vía glicolítica principal bajo la forma de 3-PG (Cuadro VI). El pH óptimo del enzima oscila entre 6.5 y 7.2 (125, 166), lo que explica la lenta cinética del ciclo de Rapoport y Lübering y la rápida degradación del 2,3-DPG en el curso de las acidosis. En esta última circunstancia interviene, además, el hecho de la reducción en su síntesis como consecuencia de la lentificación, a pH ácido, del flujo glicolítico general (125, 134, 146, 177). El "shunt" del 2,3-DPG

evita el paso por un escalón generador de ATP, con lo cual se consigue que desaparezca la ganancia neta de energía de moléculas de ATP de la glicólisis eritrocitaria (Cuadro VI) (134).

Cuadro VI: Ciclo de Rapoport y Lübering.



3. Relación del 2,3-DPG con otros niveles del metabolismo intraeritrocitario

El 2,3-DPG es el centro de un complejo sistema de regulaciones que afectan sobre todo a la vía glicolítica (25, 93, 163, 201). Algunas de estas interrelaciones ya las hemos comentado de pasada en apartados anteriores; las repetimos ahora con la intención de dar uniformidad a este epígrafe.

- El 2,3-DPG es el sustrato de la MPGM. Esta función la ejerce en las células de todos los tejidos a concentraciones muy pequeñas, muy inferiores a las que existen normalmente en el eritrocito (134, 146).
- El 2,3-DPG inhibe las actividades de algunos enzimas de la glicólisis anaerobia, de tal forma, que con ello inhibe su propia síntesis a diversos niveles y por mecanismos distintos. El 2,3-DPG inhibe —ya lo habíamos dicho— a la DPGM por competición con el 1,3-DPG (25, 163). El fosfato también actúa a distancia sobre las etapas iniciales de la vía de Embden-Meyerhoff e incluso del "shunt" de las pentosas-fosfato; parece ser que inhibe a la HK (48, 195), aunque esto no ha sido totalmente comprobado (134); disminuye la velocidad del flujo por la derivación de las pentosas a nivel de la transcetolasa y de la transaldolasa (134, 195). El 2,3-DPG también inhibe a la PFK eritrocitaria (134, 229, 230), inhibición que disminuye cuando aumentan las tasas de fosfato inorgánico (230); efecto similar ejerce sobre la PGM (134).
- Los monofosfogliceratos actúan sobre la síntesis y la degradación del 2,3-DPG; a concen-

traciones fisiológicas inhiben a la DPGP (134). Esta circunstancia tiene importantes implicaciones fisiopatológicas; es la que explica la habitual elevación del 2,3-DPG en las deficiencias de PK y la que, por efecto contrario, evita su acumulación en los déficits de PGK, al inducirse una activación compensadora del ciclo de Rapoport y Lübering, que se pone en marcha por el descenso del 3-PG (134). En la deficiencia en DPGM la vía glicolítica se acelera y el aumento consiguiente en el 3-PG protege contra la degradación de las escasas cantidades de 2,3-DPG formadas (134).

- d) El cociente ADP/ATP regula la intensidad de la derivación de Rapoport y Lübering (134, 202, 250). La proporción de glucosa consumida que se desvía por esta vía está sujeta a discusión; aunque probablemente subestimada mediante los estudios isotópicos, se evalúa en condiciones fisiológicas en un 50 % (134). El cociente ADP/ATP, por tanto, regula la actividad, por un lado, de la PGK, y, por otro, del ciclo del 2,3-DPG. Un ADP elevado estimula a la PGK; por el contrario, un ATP alto la inhibe, pero activa al "shunt" de Rapoport y Lübering. La modulación se efectúa, probablemente, a través de las concentraciones respectivas del 1,3-DPG —sustrato de la DPGM— y del 3-PG —inhibidor de la DPGP— (Cuadro VI) (134, 250). Se puede concluir, a la vista de estos hechos, que la derivación del 2,3-DPG es un sistema con una autorregulación, que tiende a mantener constantes los niveles del fosfoéster y del ATP (25).
- e) El 2,3-DPG ejerce también su influencia sobre el metabolismo de los adeninnucleótidos, al inhibir su degradación. En efecto, el 2,3-DPG tiene una acción supresora sobre la AMP-desaminasa, con lo que protege a este "pool" de nucleótidos contra la desaminación irreversible (134, 195, 202). En este sentido, el glicerofosfato puede considerarse como un reservorio de ATP, lo que nos explica la ya antigua observación de que la sangre conservada pierde más rápidamente su 2,3-DPG que su ATP (202).

4. Regulación de la concentración intraeritrocítica de 2,3-DPG

Al ser el 2,3-DPG un producto de la glicolisis eritrocitaria, es necesario comprender cómo se regula esta vía metabólica en el hematíe —tal y como ya hemos hecho— para entender los factores que influyen sobre los niveles del organofosfato (41). Al no ser capaz de sintetizar proteínas, el hematíe maduro normal modifica la velocidad de la vía glicolítica gracias a modulaciones en la actividad de sus enzimas. Por lo menos existen cinco procedimientos distintos a través de los cuales se puede inducir un incremento en las concentraciones eritrocitarias del 2,3-DPG (24, 41, 42, 44, 233):

- a) aumento en el flujo glicolítico general,
- b) incremento en la conversión del 1,3-DPG a 2,3-DPG,

- c) disminución en la degradación del 2,3-DPG a 3-PG,
- d) bloqueo en los pasos metabólicos subyacentes al 3-PG,
- e) combinación de los mecanismos anteriores.

En realidad, estos mecanismos podrían reducirse a dos: variaciones en la vía metabólica general de Embden-Meyerhoff y alteraciones particulares en la síntesis o en la escisión del 2,3-DPG a través de cambios en las actividades relativas de los enzimas —PGK, DPGM y DPGP (Cuadro VI)— que intervienen en esta derivación.

El primero de estos dos mecanismos parece ser el más importante, ya que cuando el 2,3-DPG aumenta el resto de los metabolitos de la glicólisis permanecen normales —con la excepción del ATP, que si es el caso, puede también elevarse—. Si el incremento en las concentraciones de 2,3-DPG se asociara a un flujo glicolítico constante sería lógico que se produjera una caída en los niveles de ATP, ya que la formación del glicerofosfato evita el paso por la reacción catalizada por la PGK; además, al disminuir la degradación del 2,3-DPG se reduciría la cantidad de sustrato que es transformado a piruvato, con una nueva caída en dicho ATP (Cuadro II) (41, 42, 44). Por todo ello se puede sentar la hipótesis de que las variaciones en las concentraciones intraeritrocitarias de 2,3-DPG están directamente relacionadas con una modulación en el consumo de la glucosa por el hematíe (44), aunque quizás también colaboren en parte los otros mecanismos descritos (41). Además esto está de acuerdo con el conocido hallazgo de que la utilización de la glucosa por el eritrocito se encuentra normalmente por debajo del máximo, lo que permite su adecuación a cada circunstancia concreta con sólo liberar las diversas inhibiciones enzimáticas (44). En situaciones de hipoxia —en las que el 2,3-DPG se encuentra elevado— se ha comprobado, en efecto, un incremento en el consumo de la glucosa por el hematíe (41). Indudablemente deben de existir también en estos casos, como ya hemos dicho, modulaciones posteriores a nivel del ciclo de Rapoport y Lübering, a través de cambios en las actividades de sus enzimas, aunque puede asumirse que el efecto principal se consigue mediante variaciones en el flujo glicolítico general (41). De ahí el interés, como ya hemos comentado, de conocer los mecanismos generales de control de la glicólisis anaerobia en el eritrocito.

La modulación patofisiológica del contenido en 2,3-DPG del hematíe se produce, principalmente al menos, por tres factores distintos: a) Por la situación ácido-base del eritrocito, es decir, por el pH intracorpúscular, que es fiel reflejo del extraglobular; b) Por el estado de oxigenación de la hemoglobina del hematíe, es decir, por la proporción de desoxihemoglobina y, en definitiva, por la hipoxia y c) Por el fosfato inorgánico del plasma, aunque este factor parece ser menos importante que los dos anteriores en su influencia sobre los niveles de 2,3-DPG (23, 24, 26, 28, 44, 158, 201, 233).

a) El pH del hematíe es el principal determinante de la concentración eritrocitaria del 2,3-DPG. Su interrelación ha podido ser confirmada por estudios tanto "in vivo" como "in vitro". La magnitud y el sentido del efecto del pH sobre el 2,3-DPG son de tal naturaleza que un incremen-

to de 0.01 unidades en el primero produce un aumento del orden del 3.3 % sobre su nivel normal en el segundo; para que esto suceda se precisan de unas horas a varios días, como ya dijimos anteriormente. Parece, pues, que este mecanismo de control es de una sensibilidad exquisita (26, 28, 240, 258). Ya que el pH tiene un efecto directo sobre la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno —efecto Bohr—, que se opone al producido por las alteraciones en los niveles de 2,3-DPG —efecto no Bohr del pH—, el resultado neto de las variaciones en las concentraciones plasmáticas de los hidrogeniones tiende a anularse con el tiempo (258).

Por tres mecanismos diferentes actúa el pH sobre el contenido eritrocítico en 2,3-DPG. En primer lugar, un aumento en el pH estimula el flujo glicolítico a través de su efecto sobre la actividad enzimática de la PFK (24, 42, 44, 134, 233, 240), lo que, en definitiva, incrementa la concentración del fosfoderivado. Por el contrario, la acidosis reduce la actividad de esta enzima y, por ello, los niveles del 2,3-DPG; además, esta reducción implica una caída simultánea en el 3-PG, que trae como consecuencia una activación de la DPGP (42, 134, 233). Naturalmente, existe un mecanismo de retrocontrol que está basado en la acción acidificante del medio que aparece cuando aumenta el 2,3-DPG o, en contraposición, alcalinizante cuando disminuye; con ello se amortiguan los efectos del pH (24). De esta forma, la liberación de oxígeno a los tejidos se regula, al menos en parte, por un sencillo mecanismo de retroalimentación (75).

El segundo mecanismo mediante el cual el pH ejerce su influencia sobre el 2,3-DPG está basado en su acción diferencial sobre las actividades enzimáticas de la DPGM y de la DPGP, directamente responsables de la síntesis y de la degradación del glicerofosfato, respectivamente. Una elevación del pH estimula a la primera e inhibe a la segunda, con lo que también, así, la alcalosis incrementa el contenido eritrocitario en 2,3-DPG (24, 110, 235); sin embargo, parece que este tipo de modulación es menos importante que el debido al efecto directo del pH sobre la PFK (24).

En tercero y último lugar, el pH actúa sobre el 2,3-DPG al influir en la unión de este último con la hemoglobina; en efecto, cuando el pH aumenta, esta unión disminuye, con lo que tiende a inhibirse la síntesis de “novo” del fosfoderivado, como comentaremos en el apartado siguiente.

En resumen, el balance neto que las variaciones del pH ejercen sobre los niveles eritrocíticos de 2,3-DPG es el resultado de varias acciones independientes (44).

b) El estado de oxigenación de la hemoglobina es el segundo factor en importancia que regula las concentraciones del 2,3-DPG en el hematíe circulante, tal y como indican los resultados obtenidos en la exposición experimental del organismo, tanto a la hipoxia como a la hiperoxia (75). No es conocido el mecanismo mediante el que la hipoxia incrementa la tasa del 2,3-DPG (24, 28, 48). En un principio se supuso que este intermediario glicolítico se encontraba en el glóbulo rojo en dos formas distintas en equilibrio: libre y unido a la hemoglobina. La hipoxia, al favorecer la estabilización del pigmento respiratorio en su conformación desoxigenada, aumentaría la fracción de 2,3-DPG unida a la hemoglobina reducida —a la que se fija preferentemente— y con ello reduciría la fracción libre. Esta reducción se seguiría de una desinhibición de la DPGM y, por ello, de

una síntesis adicional de 2,3-DPG libre, que persistiría hasta que se alcanzase una nueva situación estacionaria. De esta manera aumentaría la concentración eritrocitaria total de 2,3-DPG (24, 28, 44, 48, 75, 134, 162, 163, 192, 233). A pesar de que esta teoría ha sido puesta en duda por diversos autores y de que su importancia real como mecanismo de regulación del 2,3-DPG ha sido muy discutida (88, 192), a su favor se encuentra el hecho de que el control en el contenido del glicero-fosfato en el hematíe se ejerce, con toda probabilidad, sólo a través de la fracción libre o no ligada a la hemoglobina (4).

Otra tesis sostiene que al aumentar la desoxihemoglobina, menos ácida que la oxihemoglobina, se produciría una alcalosis relativa en el eritrocito, lo que favorecería la síntesis del 2,3-DPG, por el efecto directo del pH sobre la glicólisis anaerobia (24, 44, 134), tal y como hemos descrito más arriba.

Sea cual fuere el mecanismo mediante el que la hipoxia incrementa la concentración eritrocitaria del fosfoéster, la realidad es que todas aquellas circunstancias en las que se provoca una mayor desoxigenación de la hemoglobina en la sangre venosa (ejercicio, anemias, altura, enfermedades pulmonares crónicas, etc.) aumentan, en principio, esta concentración (18, 44, 99, 134).

Diversos estudios parecen sugerir que el pH eritrocitario es un factor más importante que el estado de oxigenación de la hemoglobina a la hora de regular los niveles del 2,3-DPG; el que en la anemia y en otras hipoxias exista un componente de alcalosis respiratoria secundaria a la hiperventilación crónica y el que la hemoglobina desaturada tienda a aumentar el pH intracorpúscular parecen ser hechos que apoyan esta hipótesis (44). Sin embargo, algunas observaciones han hecho dudar de ella. Parece improbable que los pequeños cambios del pH que suceden en algunas situaciones de hipoxia puedan ser responsables de los altos niveles de 2,3-DPG que pueden detectarse en estas circunstancias además, la uremia —que suele cursar, como discutiremos, con tasas elevadas del fosfoderivado— muestra una clara tendencia a la acidosis. Todo ello sugiere que el pH no es el único factor regulador de la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG, e incluso que su importancia real es variable de unos casos a otros (44).

Thomas et al. (23) han investigado experimentalmente en perros la influencia que sobre el 2,3-DPG tienen las variaciones simultáneas del pH plasmático y de la oxigenación eritrocítica. Al considerar en estos animales al 2,3-DPG como una variable dependiente, y por lo tanto como una función de los dos factores mencionados —el pH y la saturación de oxígeno de la sangre venosa mezclada (SvO_2)—, los autores citados han llegado a la relación de dependencia que se expresa en la siguiente ecuación:

$$2,3\text{-DPG (mM)} = 1.39 \text{ pH} - 0.0081 \text{ SvO}_2 (\%) - 8.8$$

De ella se deduce que el pH y la oxigenación de la sangre deben de tenerse en cuenta a la hora de explicar algunas situaciones complejas (233).

Parece ser que el control del 2,3-DPG en los eritrocitos fetales difiere del que existe en los hematíes del adulto en que el estado de oxigenación de la hemoglobina no ejerce ninguna influencia y en que la del pH intraglobular es más que dudosa (258). Se ha sugerido que tras el alumbramiento las hormonas tiroideas circulantes pudieran ser de gran importancia a este respecto (182, 248, 258).

c) La concentración de iones ortofosfato es el tercer factor de importancia en la regulación o en el control de los niveles eritrocitarios del 2,3-DPG (134). La glicolisis anaerobia es estimulada por el fosfato extracelular (42, 116, 137), por lo que no es de extrañar el hecho de que se pueda demostrar una estrecha correlación del fosfato sérico con algunos intermediarios glicolíticos, sobre todo con el ATP y con el 2,3-DPG (116, 137). Cualquier incremento en los niveles del fosfato inorgánico activa a la HK y a la PFK (42, 116) —activación que es óptima cuando dichos niveles se sitúan entre 25 y 30 mM (134)— y por lo tanto, como consecuencia de este incremento, se produce una elevación en la tasa del 2,3-DPG (42, 134, 135).

Además de los tres factores que hasta ahora hemos mencionado como de importancia primaria en la regulación de la concentración del 2,3-DPG —el pH, la oxigenación de la hemoglobina y el fosfato inorgánico— existe otro grupo de factores que bien parcial —o indirectamente o bien de forma artificial pueden influir, en uno u otro sentido, sobre esta concentración, tanto "in vivo" como "in vitro". La mayoría de ellos serán citados oportunamente; baste ahora con recordarlos, tal y como hace Valeri (240). Son, aparte de los ya mencionados, la $p\text{CO}_2$, la inosina, el piruvato, las hormonas tiroideas, la hormona somatotropa, la metilprednisolona, el ascorbato, el azul de metileno, las prostaglandinas, la dihidroxiacetona, el monoyodoacetato y los bisulfitos, principalmente.

III. Las diversas funciones del 2,3-DPG eritrocitario

El 2,3-DPG desempeña diversas funciones en el hematíe maduro normal; las comentaremos brevemente en este apartado, para, en el próximo, referirnos de forma exclusiva a la más importante de todas ellas, esto es, a su función respiratoria.

1. El 2,3-DPG y el equilibrio iónico

Diversos estudios han puesto de manifiesto la existencia de una interacción entre el 2,3-DPG y los cationes mono- y divalentes (12, 36). En un principio se pensó, incluso, en el papel del fosfor derivado como mantenedor del equilibrio iónico intraglobular (134). En efecto, el 2,3-DPG es portador de cinco grupos aniónicos disociables y a un pH fisiológico presenta 3.5 cargas negativas

por cada molécula. Existe, además, una estrecha correlación en los mamíferos entre la tasa de 2,3-DPG y el contenido globular en iones potasio; algunas especies animales (el hombre, el cerdo, el conejo, la rata) tienen a la vez niveles elevados de potasio y del fosfoéster, mientras que en otras (el gato, la cabra, etc.), por el contrario, ambas sustancias son escasas (134, 197). Algunos trabajos parecen demostrar que el 2,3-DPG juega un importante papel a la hora de mantener el estado de equilibrio entre los aniones y los cationes en el hematíe (142), al existir una marcada relación entre su metabolismo y los intercambios activos de potasio (134, 142, 201). De esta forma, el 2,3-DPG interviene en el equilibrio de Gibbs-Donnan (18, 197, 233).

2. El 2,3-DPG como reserva de energía

En todas aquellas situaciones que se caracterizan por cursar con una deficiencia de sustratos en el hematíe, se produce una degradación del 2,3-DPG; de esta manera se forman nuevas moléculas de ATP a nivel del paso catalizado por la PK (Cuadro II) (104, 134). Esto es, en definitiva, lo que sucede cuando se conserva la sangre en nevera a 4° C, como discutiremos en breve. El 2,3-DPG es, por lo tanto, un compuesto que puede funcionar como una reserva energética para el eritrocito y que se utiliza en este sentido cuando las disponibilidades de glucosa son inadecuadas.

3. El 2,3-DPG como desacoplador de la glicolisis en el hematíe

La degradación de la glucosa por la vía clásica de Embden-Meyerhoff conduce a la formación de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa consumida, como ya hemos dicho repetidas veces. La utilización de la derivación de Rapoport y Lübering (Cuadro VI) evita esta síntesis. El ciclo del 2,3-DPG permite así un consumo continuado de glucosa, sin que ello lleve aparejado el riesgo de una acumulación excesiva de ATP, que bloquearía la vía glicolítica del eritrocito y que por lo tanto, impediría la formación de los imprescindibles compuestos reductores (134, 250). En definitiva, el ciclo del 2,3-DPG permite, según ya lo habíamos comentado antes, independizar la función reductora de la energética en la glicolisis anaerobia eritrocitaria. Este complejo y a la vez sencillo sistema tiene su autorregulación; la degradación del ATP, con el consiguiente acúmulo del ADP, desinhibe a la PGK y por tanto anula a la derivación de Rapoport y Lübering (134).

4. El 2,3-DPG como protector del "pool" de los adenin-nucleótidos

El 2,3-DPG ejerce una acción inhibitoria de la actividad enzimática de la AMP-desaminasa, con lo que evita la desaminación irreversible del AMP (201, 250). De esta forma, el fosfoglicerato

desarrolla un efecto protector adicional en la conservación del "pool" de los adenin-nucleótidos, principalmente en la del ATP (134).

5. *El 2,3-DPG como sistema "buffer"*.

El 2,3-DPG posee una considerable capacidad para actuar como sistema tamponante y por ello ayuda de forma muy efectiva a mantener el equilibrio ácido-base en el hematíe (104, 142).

6. *El 2,3-DPG y la función respiratoria del hematíe*

El 2,3-DPG es capaz de actuar sobre determinadas proteínas no enzimáticas del eritrocito, esencialmente sobre la hemoglobina, de forma tal que consigue con ello intervenir en el complejo sistema regulador de la oxigenación de los tejidos y concretamente a través de modular la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (9, 26, 104). La importancia de esta función respiratoria del 2,3-DPG es de tal naturaleza que nos obliga a considerarla de manera independiente en el apartado siguiente, bajo el título de "Mención especial a la función respiratoria del 2,3-DPG".

IV. **Mención especial a la función respiratoria del 2,3-DPG**

La utilidad fisiológica de la hemoglobina no depende sólo del volumen de oxígeno que es capaz de transportar, sino también de la facilidad con que puede cederlo a los tejidos (201); en definitiva ello es función de la afinidad del pigmento respiratorio por el gas, afinidad que tiene su expresión numérica, tal y como ya explicábamos al referirnos a la curva de saturación de la hemoglobina, en la p_{50} . El 2,3-DPG tiene una importancia fisiológica de primera magnitud en este sentido, ya que puede modificar la oferta de oxígeno a las células de los tejidos al regular y modular la apetencia del pigmento respiratorio por el gas. Es a este hecho al que nos referimos cuando hablamos de la función respiratoria del 2,3-DPG.

El papel que podrían desempeñar las variaciones en las concentraciones eritrocitarias del 2,3-DPG en el transporte de oxígeno fue intuído hace ya más de diez años, cuando se comprobó la existencia de una estrecha correlación entre los niveles del fosfoderivado y la tasa de hemoglobina circulante e igualmente entre aquellos niveles y la p_{50} (29, 134, 145, 233, 244, 247).

Aunque esta correlación no demuestra una relación de causa a efecto sí que sugiere, sin embargo, que las tres variables se influyen recíprocamente, en un intento de mantener el aporte de oxígeno a los tejidos dentro de la normalidad fisiológica.

Vamos a dividir este capítulo dedicado al estudio de la función respiratoria del 2,3-DPG, tal y como acabamos de plantearlo, en dos apartados distintos; analizaremos, de forma sucesiva, primero el efecto del 2,3-DPG sobre la posición de la curva de disociación del oxígeno de la hemoglobina y después la base estructural de la interacción entre el 2,3-DPG y la hemoglobina.

1. Efecto del 2,3-DPG sobre la curva de disociación de la hemoglobina

El papel predominante del 2,3-DPG como modulador alostérico de la curva de saturación de la hemoglobina debía de haber sido, al menos, intuido con anterioridad a 1967 en base a tres observaciones diferentes:

a) Algunos fosfoderivados del hematíe, pero sobre todo el 2,3-DPG y el ATP, se fijan sobre la hemoglobina para formar un complejo con baja movilidad electroforética (52), identificable, además, por ultracentrifugación, gel filtración y ultrafiltración (134).

b) La p_{50} de la sangre conservada con diversos anticoagulantes en nevera a 4°C disminuye de forma progresiva, tal y como sucede paralelamente con el contenido eritrocitario en 2,3-DPG.

c) La afinidad de la hemoglobina por el oxígeno es mayor cuando el pigmento se encuentra purificado en una solución "in vitro" ($p_{50} \cong 5$ mm Hg) que cuando se dispone en el interior del hematíe ($p_{50} \cong 27$ mm Hg) (41, 104, 134, 163, 201); la hemoglobina libre tiene, en efecto, una afinidad que puede ser comparada a la de la mioglobina (Gráfica I) (104). Dicho de otra manera, cuando el pigmento eritrocitario está fuera del glóbulo rojo su eficacia respiratoria es menor, ya que su gran apetencia por el oxígeno le impide poder liberarse de él para cederlo a los tejidos (29).

Si recordamos que Barcroft, en 1921, al comentar este último hecho, ya sospechó la existencia de "un cierto tercer factor" en la relación entre la hemoglobina y el oxígeno (29), resulta sorprendente que estas observaciones no fueran relacionadas hasta 1967, cuando Benesch y Benesch (27) y Chanutin y Curnish (52), de forma simultánea, pero independiente, dieron la prueba directa de la acción del 2,3-DPG sobre la curva de saturación de la hemoglobina. Efectivamente, estos autores comprobaron, por primera vez, cómo al añadir diversos compuestos orgánicos fosforados a una solución de hemoglobina libre purificada, la curva de disociación con el oxígeno se desplazaba sensiblemente hacia la derecha, como era dado juzgar por la p_{50} , de tal forma, que este desplazamiento era progresivo a medida que aumentaba la concentración de los compuestos fosforados en el ensayo. Este curioso fenómeno sucedía al utilizar el ATP y el guanosintrifosfato (GTP), pero era mucho menos evidente con los otros nucleótidos di y monofosforados, que apenas modificaban la p_{50} . Algunos fosfatos inorgánicos también ejercían una acción significativa sobre esta p_{50} . El 2,3-DPG mostraba, a diferentes valores de pH, un efecto similar al ATP (52). Al constituir estos dos últimos compuestos alrededor del 70 y del 20 %, respectivamente, de los

fosfatos orgánicos eritrocitarios (Cuadro V) (el 2,3-DPG, por añadidura, se encuentra a concentraciones casi equimolares con la hemoglobina en el hematíe), los mencionados autores (27, 52) sugirieron que ambos metabolitos debían de ser, al menos cuantitativamente, los más importantes a la hora de desaturar a la hemoglobina. Otros fosfoderivados no sólo poseían una menor apetencia por ella, sino que, al ser mucho más escasos en el eritrocito, desarrollaban una acción casi nula sobre la p50 (134).

La importancia de la interacción entre el 2,3-DPG y el pigmento respiratorio ha sido repetidamente comprobada con posterioridad (9, 28, 41, 44, 48, 75, 104, 134, 163, 178). En efecto, éste y en menor proporción otros polifosfatos orgánicos, como el ATP o el ADP, disminuyen la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y, por lo tanto, desplazan la curva de saturación hacia la derecha, sin alterar para ello el efecto Bohr o la interacción heme-heme (9, 13, 25, 28, 44, 75, 104, 134); se consigue así, a través de variaciones en las concentraciones de un metabolito normal del hematíe —el 2,3-DPG—, modular la liberación de oxígeno a los tejidos (9, 25, 44, 75, 104, 134). De esta forma puede afirmarse que el glicerofosfato interviene decisivamente en la homeostasis respiratoria (9, 44, 134).

El efecto cuantitativo que la variación en los niveles del 2,3-DPG induce sobre la posición de la curva de disociación de la hemoglobina, o lo que es lo mismo, sobre la p50, es extremadamente preciso, tanto en el eritrocito intacto como cuando el pigmento respiratorio se encuentra libre en solución. A 37°C la sangre desprovista de 2,3-DPG, con un pH de 7.40 y una pCO₂ de 40 mm Hg, tiene una p50 de unos 13 mm Hg; cuando el fosfoéster está a concentraciones intracorpúsculares normales —aproximadamente, como veremos más adelante, unos 5 micromoles/ml de eritrocitos o 5 mM de hematíes— el valor de la p50 es de unos 26 mm Hg, tal y como ya referíamos anteriormente. Por ello, por cada incremento de 1 mM de hematíes en los niveles intraglobulares del 2,3-DPG, entre los límites de cero y 5 mM, se produce una elevación en la p50 de 2.6 mm Hg (18); expresado de otra forma podríamos decir que, para que la curva de saturación de la hemoglobina se desplace 1 mm Hg hacia la derecha, el 2,3-DPG tiene que aumentar unos 0.4 micromoles/ml de hematíes, siempre y cuando nos encontremos entre los límites ya mencionados de cero y 5 mM y mientras que el pH, la pCO₂ y la temperatura permanezcan constantes (41). Paradójicamente, cuando el 2,3-DPG sobrepasa el valor 8 mM, la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno continúa decreciendo sólo si el pigmento respiratorio se encuentra en el interior del hematíe, pero no se modifica, en cambio, en el caso de que se halle libre en una solución "in vitro" (201). Además, cuando la concentración de 2,3-DPG en el eritrocito muestra un valor dos veces superior al normal, es decir, 10 mM, la p50 sólo aumenta unos 6 mm Hg y no los 13 mm Hg que cabría esperar. En realidad, cuando el contenido eritrocitario en 2,3-DPG varía entre los límites de 5 y 20 mM, cada incremento de 1 mM sólo eleva la p50 en 0.7 mm Hg (18). Estas dos últimas observaciones son las que han llevado a poder precisar que, aunque existe un evidente paralelismo entre el 2,3-DPG y la p50, el primero influye sobre la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno a tra-

vés de dos mecanismos distintos (18, 24, 25, 30, 83, 142, 201, 211, 233); en primer lugar, mediante un efecto alostérico específico sobre la molécula del tetrámero, gracias al cual se estabiliza su conformación desoxigenada, efecto que ha sido denominado "helcotrópico" por Benesch et al. (29); y en segundo lugar, por las modificaciones que aparecen en el pH intraglobular con relación al plasmático al variar el 2,3-DPG.

La base estructural de la acción alostérica específica del 2,3-DPG sobre el tetrámero de hemoglobina será analizada en detalle en el apartado siguiente; conviene mencionar ahora que esta acción alcanza un efecto máximo cuando la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG llega al valor de 8 mM, aproximadamente. A partir de ese punto ya no es posible disminuir la afinidad del pigmento respiratorio por el oxígeno mediante nuevos incrementos en este efecto helcotrópico, pero sí que lo es merced a modificaciones en el pH intracorpúscular. En efecto, al ser el 2,3-DPG un anión no difusible, portador de cuatro cargas negativas a pH neutro, un aumento en su concentración hará descender el pH eritrocítico, con lo que la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno disminuirá de forma inespecífica gracias al efecto Bohr (18, 24, 25, 83, 142, 201, 233). Es este doble mecanismo de acción del fosfoéster el que nos explica el diferente comportamiento, antes comentado, de la hemoglobina libre en solución con respecto a la intraglobular. Ambos mecanismos actúan en el eritrocito intacto, aunque a altas concentraciones de 2,3-DPG su efecto acidificante inespecífico parece predominar, al menos desde el punto de vista cuantitativo, sobre el alostérico o helcotrópico (18, 24, 233). Parece, pues, obvio que la relación entre el fosfoglicerato y la hemoglobina no es de ninguna manera sencilla, sobre todo cuando la proteína respiratoria está encerrada en el interior del glóbulo rojo y éste se encuentra en circulación en el sujeto sano o enfermo (142).

La principal función del 2,3-DPG es, pues, mantener la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno dentro de unos límites de utilidad fisiológica (9, 29, 104, 134), ya que la afinidad natural o propia del pigmento es tan grande como para bloquear la liberación del gas a las pO_2 habituales de los tejidos; en este mismo sentido colaboran otros factores ambientales, además del 2,3-DPG, y que son el pH y la pCO_2 principalmente (83), ya mencionados al estudiar la curva de disociación de la hemoglobina. Así es posible que con sólo incrementar un 25 % la concentración eritrocitaria del 2,3-DPG se produzca una elevación de 3 a 4 mm Hg en la $p50$, de lo que se deriva, aproximadamente, un 22 % más de oxígeno liberado a los tejidos, siempre y cuando el resto de los sistemas que intervienen en el transporte del gas (cardiocirculatorio, hematopoyético, etc.), permanezcan inmodificados. De esta forma se consigue evitar que, para obtener un mismo volumen de oxígeno cedido a las células, sea preciso descender notablemente la pO_2 en los capilares hísticos; de no ocurrir esto así, quizás, en alguna ocasión, se podría alcanzar la nociva "tensión crítica tisular de O_2 ", variable de unos tejidos a otros, y en la cual, como ya dijimos, la fisiología de la oxigenación celular comienza a alterarse (41).

No debemos olvidar, sin embargo, tal y como comentan Thomas et al. (233), que si bien des-

de el descubrimiento del 2,3-DPG se ha prestado gran atención a su influencia sobre la posición de la curva de saturación de la hemoglobina, se ha valorado poco la significación e importancia clínica real de esta posición en cuanto al transporte del oxígeno. Diversos estudios parecen sugerir que cambios aislados en la p50 pueden no modificar sustancialmente este transporte si entran en juego mecanismos compensadores de diversa índole: cardiocirculatorios, respiratorios o hematopoyéticos. Ello no es óbice para que estos interesantes y recientemente descubiertos aspectos de la relación entre el metabolismo y la función del hematíe ofrezcan amplias posibilidades desde el punto de vista terapéutico; la inducción por agentes farmacológicos de modificaciones en la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG alterará la posición de la curva de saturación de la hemoglobina y por ello la cuantía de oxígeno liberado a los tejidos. Indudablemente esto podría reportar grandes ventajas en todas aquellas situaciones clínicas cuyo denominador común fuera la hipoxia. El tetratiónato, agente oxidante que inactiva a la DPGP y que, por lo tanto, origina unos niveles suprafisiológicos de 2,3-DPG, podría constituir un ejemplo en este sentido (92).

2. Base estructural de la interacción entre el 2,3-DPG y la hemoglobina

La base molecular del efecto alostérico específico —o helcotrópico en la terminología de Benesch et al. (29)— del 2,3-DPG sobre la molécula de hemoglobina, mediante el cual el fosfoéster modula la afinidad del pigmento respiratorio por el oxígeno, es ahora bien conocida. Recientes estudios indican que el intermediario glicolítico se encuentra normalmente en el eritrocito en una razón casi equimolar con la hemoglobina, a la que se une de manera reversible durante la desoxigenación, en la proporción de una molécula de 2,3-DPG por molécula de tetrámero (9, 12, 25, 28, 29, 30, 51, 104, 134, 250).

Los puntos de unión que el 2,3-DPG tiene con la hemoglobina deben de reunir una serie de características generales (28, 29, 134):

- a) Deben de estar situados simétricamente, de tal forma, que una sola molécula del fosfoderivado pueda actuar sobre la totalidad del tetrámero de hemoglobina.
- b) Deben de contener un número suficiente de residuos de aminoácidos cargados positivamente para que así puedan surgir las necesarias y múltiples interacciones con el altamente negativo polianión.
- c) El sitio delimitado por estos puntos de unión debe de ser lo suficientemente amplio como para poder acomodar al 2,3-DPG en la forma desoxigenada del tetrámero, pero también ha de ser cambiante, para poder expulsarlo, como discutiremos posteriormente, al oxigenarse la molécula de hemoglobina.

Los residuos específicos implicados en la unión del 2,3-DPG a la hemoglobina, es decir, el sitio y el mecanismo de fijación del glicerofosfato al pigmento respiratorio, han podido ser investi-

gados, y en parte determinados, gracias al estudio comparativo de la afinidad de las diversas hemoglobinas, normales o patológicas, por el 2,3-DPG. La hemoglobina A_1 normal del hombre adulto liga, ya lo hemos dicho, una molécula del fosfoéster por cada tetrámero. Las cadenas α no parecen ofrecer puntos de unión al glicerofosfato, ya que la hemoglobina H (β_4) se fija al 2,3-DPG de la misma forma que lo hace la A_1 . Esta fijación no modifica para nada la forma hiperbólica de la curva de disociación de la hemoglobina H, que no posee interacción heme-heme; como es sabido, ésta sólo se produce en aquellos pigmentos respiratorios en cuya constitución entran a formar parte dos pares distintos de cadenas (heterotetrámeros), como es el caso de la Hb A_1 ($\alpha_2^A \beta_2^A$) o de la Hb F ($\alpha_2^A \gamma_2^F$), pero que no existe, por el contrario, en las hemoglobinas homotetraméricas, con un único tipo de cadena polipeptídica, como sucede con la H (β_4). De estos hechos parece, pues, poder deducirse que el 2,3-DPG contrae uniones con determinados aminoácidos de las cadenas no α y, por ello, generalmente en el adulto, de las cadenas β (29, 30, 104, 134), pero que no actúa ni altera la afinidad por el oxígeno de las cadenas aisladas, tanto si son α como si son β ; es necesaria la existencia de un tetrámero completo para que se produzca el efecto alostérico o helcotrópico (29, 30, 104), ya que incluso los dímeros de cadenas no interaccionan con el 2,3-DPG (30).

Posteriormente, diversos grupos de trabajo han demostrado de forma concluyente que el lugar de unión del polifosfato está situado en la cavidad central del tetrámero de hemoglobina. Esta cavidad central está limitada, en el caso de la Hb A_1 , por las hélices N-terminal (hélice A) y C-terminal (hélice H) de ambas cadenas β (9, 11, 12, 25, 28, 29, 30, 41, 44, 46, 104, 125, 134, 170, 202, 250). Las histidinas C-terminales no parecen puntos de unión del 2,3-DPG, ya que su eliminación no modifica para nada la interacción del glicerofosfato con el pigmento respiratorio. Por el contrario, el grupo NH_2 de la valina β N-terminal interviene en esta unión, como parece poder deducirse del hecho de que la Hb A_{1c} , en la que dicho grupo se encuentra bloqueado al haberse formado una base de Schiff con una glucosa, muestra muy poca afinidad por el 2,3-DPG (29, 31, 46, 134). La competición entre el CO_2 y el fosfoderivado como ligandos de la desoxihemoglobina confirman la participación de este grupo NH_2 como punto de fijación del 2,3-DPG (41, 134).

Los estudios con hemoglobinas fetales han permitido localizar otros aminoácidos como residuos de unión del fosfoéster. Efectivamente, la Hb F ($\alpha_2^A \gamma_2^F$) es mucho menos sensible que la Hb A_1 ($\alpha_2^A \beta_2^A$) a los polifosfatos orgánicos en general y al 2,3-DPG y al ATP en particular (29, 46, 104, 134). La variante Hb F_{11} , la de mayor importancia desde el punto de vista cuantitativo, difiere de la hemoglobina normal del adulto, entre otras cosas, porque su residuo 143 (o aminoácido H-21) de las cadenas no α ha dejado de ser una histidina (como lo es en la cadena β de la Hb A_1) para convertirse en una serina (en la cadena γ de la Hb F); no nos sorprende, por ello, su alta afinidad por el oxígeno, dado el pequeño efecto que sobre ella tiene el fosfoderivado. Esta histidina β -143 es un excelente punto de fijación para el 2,3-DPG, en razón, sobre todo, de su posición espacial y de su carga positiva (29, 31, 44, 46, 104, 134). Los estudios en la Hb Hiroshima

también han colaborado a confirmar esta hipótesis; en esta hemoglobina la histidina β -143 se encuentra sustituida por un residuo de ácido aspártico, por lo que no es de extrañar que también este pigmento, al no interactuar con el 2,3-DPG, posea una gran afinidad por el oxígeno, aún en presencia del fosfoéster (44, 134).

En el caso de la variante Hb F₁, que constituye un 15 % aproximadamente de la Hb F en la sangre del cordón (46), se demuestra una insensibilidad total al 2,3-DPG; ello es debido a que dos de sus puntos de fijación en cada cadena no α se encuentran alterados: la histidina 143 por sustitución, en primer lugar, y el aminoácido N-terminal no α por un bloqueo causado por la unión covalente de un grupo acetilo, en segundo lugar (29, 46, 134).

La localización precisa de los otros puntos de unión del 2,3-DPG a la molécula de hemoglobina ha sido exactamente predicha por estudios bioquímicos de diversa índole (46, 170), que, de manera directa, han sido posteriormente comprobados, mediante cristalografía de rayos X (11). En resumen, y para simplificar el problema, podemos decir que la molécula del polianión 2,3-DPG se sitúa en la entrada de la cavidad central de la hemoglobina, entre los dos extremos N-terminal de ambas cadenas β ; este lugar se halla dominado por ocho grupos básicos, cuatro en cada cadena β , con siete de los cuales establece interacciones electrostáticas el fosfoéster. De esta forma, las cargas negativas del polianión consiguen mantenerlo en esa posición al anclarlo, mediante siete puentes, con residuos de aminoácidos cargados positivamente. Estos siete residuos, o puntos de unión a la proteína, son los constituidos por las valinas β -1 y las histidinas β -2 y β -143 en ambas cadenas polipeptídicas β y la lisina β -82 en sólo una de estas cadenas (11, 12, 25, 29, 30, 41, 42, 44, 46, 104, 125, 134, 171, 201, 202).

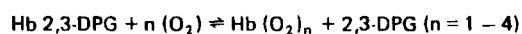
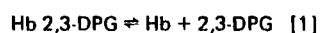
Muchas uniones están, pues, implicadas en la interacción del 2,3-DPG con la hemoglobina. Ello se refleja también en la menor actividad helcotrópica o alostérica que tienen otros aniones al unirse al pigmento respiratorio. En efecto, esta actividad decrece progresivamente desde el 2,3-DPG hasta los monofosfatos orgánicos como el 3-PG, pasando por los fosfatos inorgánicos para finalizar en las sales neutras como el cloruro sódico. En este sentido, el 2,3-DPG puede ser contemplado como una "supersal", ya que puede ejercer su acción fisiológica a unas concentraciones (5 mM) compatibles con el equilibrio osmótico del hematíe (29). A la vista de esto podemos afirmar que la unión de la hemoglobina —más concretamente de la desoxihemoglobina, como discutiremos a continuación— con los aniones es un fenómeno relativamente inespecífico, ya que diversos compuestos, incluso no propios del eritrocito, pueden realizarla (29). El ATP, el segundo polifosfato orgánico en abundancia en el hematíe, posee una actividad helcotrópica intrínseca similar a la del 2,3-DPG (30). Su papel en el glóbulo rojo es, a este respecto, como ya dijimos, mucho menor, debido a su menor concentración (29).

Hemos analizado, hasta este momento, cuáles son los puntos gracias a los que el 2,3-DPG se une a la desoxihemoglobina. El motivo de la fijación preferencial, sino exclusiva (29, 41, 42, 48, 51, 88), del glicerofosfato a este estado de conformación, y no al oxigenado del pigmento, ha

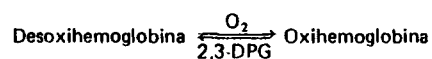
sido objeto de profundos estudios por el grupo de Max Perutz (154, 170, 171); parece ser que la causa de esta peculiaridad, que en definitiva es a la que se debe el beneficioso efecto modulador que el 2,3-DPG ejerce sobre la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, se cifra en los cambios espaciales que tienen lugar en la estereoquímica de la estructura cuaternaria durante la oxigenación de la hemoproteína (11, 12, 29, 41, 42, 51, 59, 104, 134, 171, 250). Para comprender cuáles son estos cambios espaciales que aparecen al introducirse una molécula de oxígeno en la molécula del tetrámero conviene recordar ahora brevemente algunos de los aspectos que mencionábamos al hablar de la estructura y la función de la hemoglobina. El grupo prostético de este cromoproteido es el complejo formado por un átomo de hierro y la protoporfirina IX. Los cuatro anillos pirrólicos de la protoporfirina, unidos por puentes meténicos y sustituidos en sus posiciones externas por grupos metilos, vinilos y propionilos, están en un mismo plano. El átomo de hierro ocupa el lugar central del anillo de la porfirina y se encuentra coordinado con los cuatro nitrógenos pirrólicos; las otras dos posibilidades de enlace del hierro son perpendiculares al plano del anillo y se utilizan para la unión con la cadena polipeptídica correspondiente por un lado y con la molécula de oxígeno, opcionalmente, por el otro (en la desoxihemoglobina el sexto enlace coordinado del átomo de hierro está vacío (9); la primitiva idea de que estuviera ocupado por una molécula de agua ha sido desechada en el momento actual). La cavidad central del anillo de la protoporfirina tiene un radio de 2 Å aproximadamente y en ella cabe de forma estricta, en el mismo plano, el átomo de hierro cuando se encuentra hexacoordinado, es decir, cuando está oxigenado. La desoxigenación trae consigo un aumento de 0.17 Å en el radio atómico, con lo que el hierro se hace demasiado grande para acomodarse a esta cavidad central y por ello se ve obligado a salir del plano del tetrapirrol en unos 0.75 Å. Los movimientos que acarrea la oxigenación del grupo heme, que modifican, tanto en la ferroprotoporfirina aislada como en la hemoproteína completa, la interrelación estructural entre el hierro y la porfirina, son de una importancia primordial a la hora de comprender los cambios espaciales que se inducen en la configuración cuaternaria de la totalidad de la molécula del tetrámero de hemoglobina al reaccionar con el oxígeno; en definitiva, y desde el punto de vista que nos interesa en este momento, estos cambios espaciales consisten en una aproximación de las hélices A y H de las cadenas no α , lo que inexorablemente conduce a una disminución, de unos 6 Å, en el tamaño de la cavidad central de la hemoglobina; esta cavidad central del tetrámero es —ya lo hemos explicado más arriba— el lugar donde se ubica el 2,3-DPG cuando reacciona con el pigmento respiratorio (9, 12, 24, 29, 41, 44, 46, 51, 104, 134, 154, 170, 171, 250).

De esta forma podemos simplificar el problema al afirmar que los movimientos relativos de las cadenas β permiten a la hemoglobina tetramérica coexistir en dos conformaciones espaciales diferentes, pero en equilibrio entre sí: la oxigenada, que favorece la unión con el oxígeno y en la que las cadenas polipeptídicas mencionadas están unos 6 Å más próximas entre sí, y la desoxigenada o reducida, de menor apetencia por el gas y en la que la cavidad central del pigmento se amplía esos mismos 6 Å. Esta ampliación de 6 Å, sobre los 5 Å que aproximadamente tiene la cavidad,

permite a la molécula de 2,3-DPG, cuyo tamaño es de unos 9 Å, acomodarse perfectamente en ella, pero, por lo tanto, sólo cuando la hemoglobina se encuentra en su estado reducido, pero no cuando lo está en el oxigenado. Estos hallazgos han hecho sugerir que prácticamente sólo el desoxitetrámero tiene la estructura molecular correcta y precisa para proporcionar una cavidad estereoespecífica para que en ella se ubique la molécula del 2,3-DPG (12, 24, 29, 41, 42, 44, 46, 88, 104, 134, 250), el cual se une entonces por sus grupos aniónicos, mediante siete puentes salinos, a los residuos catiónicos de las cadenas β , tal y como ya referimos anteriormente. Una vez situado en la cavidad central de la desoxihemoglobina el 2,3-DPG bloquea los movimientos relativos de las hélices A y H de las cadenas no α e impide con ello la transformación espacial necesaria para la unión del pigmento respiratorio con el oxígeno. Podemos por lo tanto afirmar que el 2,3-DPG estabiliza la conformación desoxigenada de la hemoglobina, con lo que consigue que disminuya su afinidad por el oxígeno (12, 24, 29, 37, 41, 59, 134, 150). En este sentido, ambos elementos, el fosfoéster y el gas, pueden considerarse como competidores por la hemoglobina (24, 41, 104, 134, 201). El 2,3-DPG es responsable de la resistencia del pigmento a la oxigenación al estabilizar su estado reducido, mientras que el oxígeno trata de forzar la conformación oxigenada, con lo que expulsa al fosfoéster de la cavidad central del tetrámero. Esta interrelación puede esquematizarse de la siguiente forma (24, 29, 134):



A concentraciones elevadas de 2,3-DPG la reacción [1] se desplaza hacia la izquierda, con lo que disminuye la cantidad de hemoglobina libre para fijar oxígeno. Por el contrario, a $p\text{O}_2$ elevadas la reacción [2] se desplaza hacia la derecha, con lo que el 2,3-DPG queda libre en el hematíe. En resumen, el fosfoderivado hace decrecer la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, mientras que éste, en cambio, disminuye la apetencia del pigmento por el 2,3-DPG (134); dicho de otra forma, cuanto más alto es el contenido eritrocitario en el fosfoéster mayor ha de ser la $p\text{O}_2$ necesaria para conseguir la misma saturación de la hemoglobina (30, 59). Se comprende así la relación recíproca de los dos elementos en cuanto a su unión con el pigmento respiratorio (29), relación que puede representarse con la reacción (24):



La fuerza de la unión entre el 2,3-DPG y la hemoglobina aumenta a medida que disminuye el pH, como corresponde a un anión polivalente, que interacciona con los grupos catiónicos de la proteína (30).

Hemos revisado así cual es la base estructural o molecular de la interacción entre el 2,3-DPG y la hemoglobina. Comprendemos ahora lo que significa que el glicerofosfato estabilice la forma desoxigenada del pigmento y por qué ello lleva aparejado una disminución en su afinidad por el oxígeno; en esencia esta menor afinidad es la que se traduce en una curva de saturación de la hemoglobina desplazada hacia la derecha, lo que equivale a decir que existe una mayor facilidad para la cesión del oxígeno. De ahí la importancia, que repetidamente hemos comentado, del 2,3-DPG como modulador de la función respiratoria de la hemoglobina, al determinar, al menos en parte, la posición de su curva de disociación con el oxígeno y, por lo tanto, la oferta del gas a los tejidos.

V. Métodos de dosificación del 2,3-DPG intraeritrocitario

Podemos distinguir, en principio, dos grupos de procedimientos para la dosificación del 2,3-DPG intraeritrocitario (134, 146, 231): los enzimáticos y los colorimétricos. Vamos a describirlos brevemente.

1) Métodos enzimáticos. Son, en general, bastante sensibles y específicos. Pueden, a su vez, estar basados en dos principios diferentes, los cuales son el resultado de dos importantes observaciones; en primer lugar, que el 2,3-DPG ejerce una acción catalítica sobre la reacción de la MPGM, y en segundo lugar, que la MPGM tiene actividad de DPGP. En atención a estas dos observaciones los métodos enzimáticos para la determinación del 2,3-DPG eritrocitario se clasifican en dos tipos distintos, cuyo fundamento exponemos sucintamente a continuación:

a) El 2,3-DPG es utilizado como cofactor de la MPGM (EC 2.7.5.3). La reacción enzimática puede ser llevada después hacia lactato o hacia gliceraldehido-3-fosfato; se habrá de determinar bien la variación en la concentración del NADH, basados para ello en su coeficiente de extinción molar, o bien, por medio de fotolorimetría, se habrá de dosificar el piruvato formado (59, 110, 131, 159, 235). Existen variantes automatizadas de estas técnicas (110), que requieren, en general, un sustrato libre de 2,3-DPG y que han de normalizarse con cantidades conocidas del fosfoéster.

b) El 2,3-DPG es usado como un sustrato, que ha de ser escindido estequiométricamente por la acción colateral fosfatásica de la MPGM; se forma entonces el consiguiente monofosfoglicerato con la liberación de una molécula de fosfato inorgánico. La actividad colateral de la MPGM es estimulada y la principal es inhibida por el 2-fosfoglicolato.

Estos tipos de métodos pueden a su vez subdividirse en dos grupos distintos, según que el producto de la reacción que miden sea el fosfato inorgánico —por colorimetría— o bien el monofosfoglicerato, tras seguir la reacción hacia lactato o hacia gliceraldehido-3-fosfato, como antes hemos indicado, utilizando para ello el coeficiente de extinción molar del NADH, con lectura espec-

trofotométrica a 340 nm, y recordando que la concentración del 2,3-DPG es proporcional a la variación en la absorbancia del NADH (59, 79, 106, 146).

Los métodos enzimáticos se dosifican en general por espectrofotometría, aunque se han descrito técnicas fluorométricas (123); estas últimas sólo son recomendables cuando la sensibilidad de la espectrofotometría es insuficiente, como puede suceder en el estudio de algunos materiales biológicos (146); la fluorometría, aunque más precisa, es generalmente más laboriosa (132). También se han descrito variantes automatizadas para la determinación del 2,3-DPG (106).

2) Métodos colorimétricos. Están basados en el carácter ácido-estable del 2,3-DPG y en la reacción coloreada que tiene lugar entre el fosfoéster y algunos compuestos químicos como por ejemplo el 1,3-dihidroxinaftaleno (naftoresorcinol); esta reacción, introducida en 1923 por Eegriwe (77), fue adaptada posteriormente por Rapoport (176) para ensayos cuantitativos. Mucho más específica que esta técnica con el naftoresorcinol es la puesta a punto por Bartlett (21), que utiliza el 4,5-dihidroxi-2,7-naftaleno sulfónico (ácido cromotrópico); en efecto, este último método ofrece las ventajas de una sensibilidad mucho mayor y de una más alta selectividad para el análisis cuantitativo de los fosfogliceratos. Posteriormente, algunos autores (75, 201, 202, 231) han introducido pequeñas modificaciones al método del ácido cromotrópico de Bartlett (21).

Los métodos enzimáticos, en general, y el colorimétrico de Bartlett (21) son comparables en lo que respecta a las variables analíticas (231), aunque, por otra parte, los primeros son, hasta cierto punto, más engorrosos, delicados y además relativamente caros (17). Diversas comparaciones entre los distintos métodos han sido realizadas recientemente por algunos autores (47, 48, 231).

Ultimamente, el 2,3-DPG intraeritrocitario ha comenzado a ser analizado por medio de espectroscopia de resonancia magnética con fósforo-31 (129).

Los resultados, en cuanto a la concentración del 2,3-DPG en el hematíe, pueden ser expresados bien en razón a su contenido por gramo de hemoglobina o por volumen de eritrocitos o bien por su relación molar con la hemoglobina. Quizás la manera más correcta de expresar los resultados sea referirlos al contenido eritrocitario de 2,3-DPG por volumen globular (112).

VI. Valores normales y variaciones fisiológicas del 2,3-DPG eritrocítico

1. Valores normales de la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG

Aunque ya hemos comentado que el sistema de unidades más apropiado para expresar el contenido en 2,3-DPG de los hematíes —y probablemente también, además, del resto de los metabolitos intermediarios intraeritrocitarios— es quizás el de micromoles/ml ($\mu\text{moles/ml}$) de eritrocitos —o lo que es lo mismo, milimoles/litro o concentración milimolar (mM)— (112), en la literatura,

sin embargo, se utiliza el resto de los sistemas a que nos hemos referido en el apartado anterior —micromoles/gramo de hemoglobina (μ moles/g Hb) y moles/mol de hemoglobina—, según la preferencia de cada uno de los diversos autores. Por ello, los valores normales de la concentración intraeritrocitaria de 2,3-DPG variarán según cual haya sido el sistema de unidades elegido.

En la tabla 40, que por hacer también mención a nuestros resultados incluimos en el capítulo de "Discusión y comentarios", reseñamos los valores normales del contenido eritrocítico de 2,3-DPG, obtenidos por 35 grupos de trabajo, tras el estudio de un número variable de controles sanos. En esta misma tabla expresamos también, cuando así aparece en la publicación original, la edad, el sexo, los niveles de hemoglobina (Hb) y de hematocrito (Hcto) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) de cada uno de los grupos de controles normales analizados en cada una de estas publicaciones.

En todos aquellos trabajos (8, 10, 16, 79, 89, 93, 103, 112, 131, 134, 135, 147, 149, 152, 159, 162, 163, 166, 169, 185, 201, 202, 237) en los que las concentraciones intraeritrocitarias de 2,3-DPG se expresan en forma de μ moles/ml de hematíes los valores normales oscilan, la mayoría de las veces, entre 4.0 y 5.0 mM. En el caso de que los resultados se refieran como μ moles de 2,3-DPG/g Hb la mayor parte de los autores (41, 64, 69, 72, 75, 110, 148, 161, 167, 201, 202, 244) encuentran que sus valores normales, aunque con una variación más amplia que en el caso anterior, se sitúan entre 12.5 y 14.5 μ moles/g Hb. Finalmente, en aquellas publicaciones (15, 63, 106, 193) en las que se hace mención a la relación molar entre el 2,3-DPG y la hemoglobina se comprueba cómo la razón entre ambos parámetros es algo menor a la equimolaridad, es decir, se aproxima a 1 mol de 2,3-DPG/mol de hemoglobina.

2. Variaciones fisiológicas de la concentración de 2,3-DPG en el eritrocito

En la determinación de los niveles intraeritrocitarios del 2,3-DPG en diversas especies animales, incluida la humana, parece existir un cierto grado de control genético, que se uniría al control cuantitativo ejercido por los factores ambientales, ya conocidos y analizados anteriormente. Este control genético quizás se efectúe a través de una regulación de las actividades de los diversos enzimas glicolíticos (42, 44). No parece que hayan sido publicados estudios sobre la herencia de los niveles de 2,3-DPG en los hematíes humanos, pero sí que existen, por el contrario, en algunas especies animales, como la de las ratas "Hooded" (42, 44). En estas ratas, partiendo de una misma población y por selección genética, se han conseguido dos cepas de animales caracterizadas por unas concentraciones de 2,3-DPG altas y bajas, respectivamente. Estos trabajos parecen indicar que debe de existir una fuerte influencia hereditaria en la determinación de los niveles del fosfoéster en el hematíe y, en general, también, en la de los otros metabolitos intermediarios de la glicólisis anaerobia, cuyo origen, al menos en parte, debe de atribuirse a la presencia de diferencias en las actividades de los enzimas de esta vía metabólica del eritrocito (41).

El envejecimiento fisiológico del hematíe, tanto "in vivo" como "in vitro", se acompaña de una disminución progresiva de su contenido en 2,3-DPG y por ello de un aumento en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno; esto tiene cierta importancia y debe de valorarse cuando se estudia el fosfoéster en síndromes anémicos, pues la cantidad que exista de este metabolito en un mililitro de glóbulos rojos dependerá de si aquellos síndromes cursan o no con una reticulocitosis. Parece ser que los reticulocitos y los eritrocitos jóvenes, en general, tienen unos niveles superiores de 2,3-DPG a los que poseen los hematíes maduros (28, 104). Diversos estudios han puesto de manifiesto cómo las actividades de ciertas enzimas, particularmente los de la vía glicolítica eritrocitaria, disminuyen con el envejecimiento del hematíe; a este fenómeno podría atribuirse el origen de la diferencia comentada, en cuanto a la concentración del 2,3-DPG, entre los eritrocitos jóvenes y los más maduros (104).

Los niveles de 2,3-DPG tienden a mantenerse constantes en un mismo individuo a lo largo del tiempo, siempre y cuando no sean modificados por factores extrínsecos incidentales, y para períodos de edad no demasiado amplios (41).

La existencia de diferencias en el contenido eritrocitario en el fosfoéster entre las distintas edades en un mismo individuo o grupo de individuos es un tema sujeto a discusión. Mientras algunos autores (13, 23, 25, 106, 162, 182, 206, 239) creen que no existen variaciones en este sentido y que por lo tanto los hematíes fetales, del recién nacido o del niño, hasta los cinco años de edad, tienen los mismos niveles de 2,3-DPG que los eritrocitos del sujeto adulto y que, en todo caso, la única diferencia radicaría en las características de su unión a la hemoglobina (182), otros autores (24, 41, 242), por el contrario, sugieren que existe un cierto efecto de la edad sobre el contenido eritrocitario en 2,3-DPG. Según Bellingham (24), Brewer (41) y Valeri (242) los niveles de 2,3-DPG y de ATP se encuentran más elevados en los niños que en los adultos, lo que explicaría el porqué la p50 suele ser mayor en los primeros que en los segundos (41). Según los mencionados autores (24, 41, 242) existe un descenso gradual en la actividad metabólica del hematíe a medida que envejece el organismo; se ha sugerido que la presencia fisiológica en los niños de unas concentraciones séricas superiores de fosfato inorgánico induciría un incremento en la tasa del fosfoéster en esta época de la vida. Como consecuencia de la menor afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y por ende del mayor aporte del gas a los tejidos disminuiría la producción de eritropoyetina, lo que originaría una reducción en la masa eritrocítica total. Esta hipótesis podría explicar, al menos en parte, la existencia de unas tasas de hemoglobina y de hematocrito menores en la infancia en comparación con las de la edad adulta (24). No conocemos ningún trabajo que haga referencia a estudios del 2,3-DPG en diferentes grupos de edades entre los adultos.

En algunos mamíferos, como por ejemplo la oveja o el conejo, los niveles de 2,3-DPG experimentan un incremento tras el nacimiento, por lo cual, al disminuir la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, el feto se adapta mejor a la vida extrauterina. Este hecho parece tener su origen en una elevación en la actividad enzimática de la DPGM (54, 55).

La influencia del sexo sobre la concentración intraeritrocitaria de 2,3-DPG ha sido poco estudiada y también aquí las opiniones están divididas. Mientras que algunos autores (75, 106, 110) no encuentran diferencias a este respecto entre ambos sexos, aunque las hubiera en cuanto a la tasa de hemoglobina (75), otros autores (41, 42), por el contrario, mantienen que la mujer posee unos niveles de 2,3-DPG superiores a los del hombre. Es un hecho conocido que la mujer, a partir de la adolescencia, muestra unos valores de hemoglobina circulante menores que los del hombre. Pudiera ser que esto se compensara en parte por la mayor capacidad de los eritrocitos de la mujer de liberar oxígeno frente a las mismas condiciones (75). Se ha sugerido que el consumo de glucosa es más elevado en estos hematíes que en los del hombre, aunque los hipotéticos mecanismos enzimáticos que conducirían a esta diferencia no han sido aún establecidos. Diversos estudios comparativos de los intermediarios glicolíticos eritrocitarios parecen apoyar el hecho de la existencia de una mayor actividad enzimática de la HK en la mujer (41). La razón íntima de este fenómeno, de existir, es por supuesto totalmente desconocida.

Algunos autores (19, 42, 44, 75) opinan que aún dentro de las pequeñas variaciones en el contenido eritrocitario en 2,3-DPG que presentan los individuos normales, la tasa de hemoglobina se correlaciona inversamente con los niveles del fosfoéster. Baltzer et al. (19) han encontrado, en 42 determinaciones de hemoglobina y 2,3-DPG efectuadas simultáneamente en sujetos sanos, un coeficiente de correlación igual a -0.6646 . Esto pudiera sugerir que la sangre, en un intento de mantener una adecuada oferta de oxígeno a los tejidos, ajusta las dos variables —hemoglobina y 2,3-DPG— de forma inversa; o lo que es lo mismo, cuando una de ellas permanece fija la otra varía recíprocamente (44).

Cabe comentar, finalmente, en lo que se refiere a las variaciones fisiológicas en la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG, que aunque en algún trabajo se refiere que existen diferencias entre el fosfoéster medido en sangre venosa con respecto al determinado en sangre arterial, el lento metabolismo del fosfoderivado hace muy improbable el que estas diferencias existan realmente (192).

E. EL 2,3-DIFOSFOGLICERATO DEL HEMATIE EN ALGUNAS SITUACIONES CLINICAS

I. El 2,3-DPG en situaciones de hipoxia

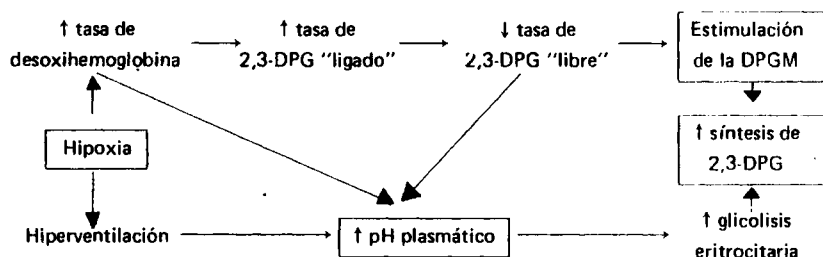
El organismo trata de adaptarse a todas aquellas situaciones que se caractericen por cursar con hipoxia en los tejidos por medio de dos mecanismos diferentes: en primer lugar, por un incremento en la cantidad de oxígeno transportado, bien merced a un aumento de la tasa de hemoglobina circulante o bien gracias a una elevación en el gasto cardíaco, y en segundo lugar, por una modificación en la afinidad del pigmento respiratorio por el oxígeno (14, 104, 134). El primero de los dos mecanismos es, en ciertos casos, de instauración lenta —el tiempo necesario para que aparezca una poliglobulia—, y en otros, poco económico para el organismo —mayores necesidades de oxígeno para incrementar el volumen minuto cardíaco—. El segundo mecanismo de adaptación a la hipoxia es, por el contrario, relativamente rápido y económico. En efecto, las modificaciones en la p_{50} , es decir, en la posición de la curva de saturación de la hemoglobina o, lo que es lo mismo, en la afinidad de la hemoproteína por el oxígeno, alteran, en uno u otro sentido, la facilidad de cesión del gas a los tejidos. Se ha comprobado cómo en las situaciones de hipoxia hística las variaciones en la p_{50} son paralelas a las que se evidencian en el 2,3-DPG, metabolito glicolítico que, como ya hemos comentado repetidamente, ocupa un lugar primordial en la "función respiratoria" del hematíe (134).

Ya en 1927 se observó cómo en la anemia existía una disminución en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno; posteriormente, un fenómeno similar se ha puesto de manifiesto en todos aquellos sujetos expuestos a grandes alturas sobre el nivel del mar. Desde entonces se ha comprobado cómo las situaciones de hipoxia de casi cualquier origen —síndromes anémicos, bronconeumopatías crónicas, cardiopatías cianógenas, insuficiencias cardíacas congestivas, exposición a grandes alturas, etc.— se acompañan, en general, de desplazamientos hacia la derecha en la curva de disociación de la hemoglobina; no ha sido sino años después cuando se ha demostrado que estos desplazamientos se debían a incrementos en los niveles del 2,3-DPG intraeritrocitario (134, 162, 163). Efectivamente, la importancia del fosfoéster como mecanismo de adaptación a la hipoxia tisular parece que ha quedado establecida de forma definitiva.

Cuando hablábamos del metabolismo del 2,3-DPG ya discutíamos cómo la hipoxia intraeritrocitaria podía originar ciertas modificaciones en la concentración intracorpúscular del organofosfato. De forma similar, aunque en cierto modo con una perspectiva más amplia, podemos razonar a la hora de valorar la regulación de los niveles del 2,3-DPG en todas aquellas situaciones clíni-

cas caracterizadas por hipoxia celular. En el cuadro VII se indica, de modo esquemático, cómo se lleva a cabo esta regulación.

Cuadro VII: Regulación de la concentración intraeritrocitaria de 2,3-DPG en las situaciones de hipoxia. Modificado de Leroux y Najman (134)



En síntesis, está basada en dos hechos: en primer lugar, el aumento de la tasa de desoxihemoglobina circulante conduce a una caída en el "pool" libre disponible del fosfoéster y, por ello, a una estimulación de la actividad enzimática de la DPGM; en segundo lugar, el aumento en la desoxihemoglobina, la disminución en los niveles del 2,3-DPG "libre" (polianión ácido) y la hiperventilación habitual de las situaciones hipóxicas son circunstancias, todas ellas, que favorecen la alcalosis, tanto plasmática como globular, y por lo tanto, al aumentar el flujo glicolítico, incrementan la síntesis del 2,3-DPG (134).

Aunque el efecto del pH sobre la concentración del 2,3-DPG parece claro, la situación es algo más compleja cuando se toma en consideración la influencia simultánea de ambos factores —pH y 2,3-DPG— sobre la posición de la curva de saturación de la hemoglobina. Por un lado, la alcalosis desplaza esta curva hacia la derecha, merced a un mecanismo indirecto —efecto no Bohr del pH— mediado por el 2,3-DPG. Por otro lado, la alcalosis tiene un efecto directo e independiente —el ya estudiado efecto Bohr— a través del cual la curva de disociación se desvía hacia la izquierda. En el sujeto vivo, y dentro de unos ciertos límites de variación del pH, parece que la p50 no se modifica de forma significativa, ya que los dos efectos mencionados se contraponen y tienden a anularse mutuamente (134). Ello no es óbice para que la acción directa e inmediata del pH sobre la curva de saturación, al agravar la hipoxia intracorpúscular, favorezca la fijación del 2,3-DPG sobre la hemoglobina, lo que, en definitiva, incrementa la síntesis del fosfoderivado (134).

En las próximas páginas vamos a revisar algunos de los trabajos más representativos referentes al estudio del 2,3-DPG en las situaciones clínicas caracterizadas por hipoxia hística. En tales situaciones la cuantificación del fosfoderivado nos permitirá conocer mejor cómo se efectúa realmente

la oxigenación de los tejidos; no es de extrañar, por lo tanto, que a esta determinación se la haya considerado como una "biopsia fisiológica" (201, 244).

1. *La hipoxia de la altura*

Por medio de diversos estudios parece que se ha podido demostrar de forma concluyente que los niveles eritrocitarios del 2,3-DPG se encuentran elevados en todos aquellos sujetos que viven habitualmente en alturas muy por encima del nivel del mar (10, 28, 44, 99, 190, 191, 192, 233, 242); este hallazgo podría explicar el porqué estos sujetos presentan un franco desplazamiento hacia la derecha en la curva de saturación de la hemoglobina, desplazamiento repetidamente objetivado desde hace años (13, 14, 44, 99, 233). En efecto, en las primeras horas después de la exposición a grandes alturas, alcanzadas tras un ascenso brusco de un individuo sano, aclimatado a vivir normalmente a nivel del mar, se producen una serie de cambios importantes e interrelacionados entre el pH plasmático, el 2,3-DPG del hematíe y la p50. Inicialmente —en las primeras seis horas— la hipoxemia, que aparece como consecuencia de la baja presión inspiratoria de oxígeno, es el origen de una hiperventilación aguda, que a su vez es la causa de una alcalosis respiratoria y de una hipocarbía. Esta precoz elevación del pH plasmático conduce, por el efecto Bohr, a un incremento inmediato en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, es decir, a un descenso en la p50 (190, 191, 242). Posteriormente, a lo largo de las horas siguientes, esta afinidad disminuye de modo progresivo hasta alcanzar sus valores normales. La variación en la p50 que acabamos de comentar parece que tiene su origen en los cambios metabólicos que la alcalosis respiratoria induce en la glicolisis eritrocitaria. Como ya hemos referido en repetidas ocasiones, un aumento en el pH, en primer lugar activa a la PFK y, por ello, a la vía de Embden-Meyerhoff y, en segundo lugar, eleva la concentración intraglobular del 2,3-DPG; en esta elevación la hipoxia, de forma directa, también pudiera tener un papel importante (13, 41, 44, 190, 191, 192, 242, 249).

En cualquier caso, el resultado final de esta alteración del pH plasmático es una lenta acumulación de 2,3-DPG en el interior de los hematíes, lo que explica la normalización tardía de la p50, es decir, de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (242).

La importancia relativa de la alcalosis en la patogenia de estos fenómenos adaptativos se desprende del hecho comprobado de su falta de aparición cuando se impide la elevación del pH por diversos procedimientos, como la respiración en un medio ambiente rico en CO₂ ó los tratamientos con acetazolamida (191, 233).

Una vez pasados los primeros días de aclimatación a la nueva situación de la altura, la alcalosis desaparece como consecuencia de la mayor excreción renal de bicarbonato. El efecto del 2,3-DPG sobre la p50 no es entonces contrarrestado por el efecto Bohr y ello conduce, finalmente, a una reducción en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (190). Todo este complejo proceso,

cuya realidad ha sido también comprobada en situaciones de altitud simulada equivalentes a 4500 metros en cámaras de baja presión (191, 192), se invierte cuando a los sujetos adaptados se les traslada nuevamente al nivel del mar. Fenómenos contrarios a los hasta ahora comentados se han demostrado, tanto en animales de experimentación como en el hombre, cuando éstos son sometidos experimentalmente a hiperpresión en cámara hiperbárica (13, 14, 75).

El mecanismo de compensación de la hipoxia de las grandes alturas, tal y como lo acabamos de describir, es un proceso adaptativo de gran utilidad para el organismo siempre y cuando tenga lugar dentro de ciertos límites. Cuando se sobrepasan los 4500 metros de altitud los valores de la pO_2 alveolar son ya francamente bajos y se inscriben en la parte pendiente de la curva de disociación de la hemoglobina. En estas condiciones, cualquier desplazamiento hacia la derecha en esta curva no hará sino entorpecer la saturación del pigmento respiratorio a nivel pulmonar (190, 233). No conviene olvidar, a pesar de todo, que las variaciones en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno son sólo una parte de los mecanismos adaptativos que aparecen como respuesta a la hipoxia crónica de la altura (14, 191, 233); el complejo sistema de la eritropoyetina es otro mecanismo no menos importante y en cualquier caso en íntima relación con el 2,3-DPG eritrocitario.

2. Las cardiopatías congénitas cianosantes

Parece que existe un acuerdo unánime en aceptar que los enfermos afectados de cardiopatías congénitas caracterizadas por un cortocircuito de derecha a izquierda y, por lo tanto, con hipoxemia, muestran un desplazamiento hacia la derecha en la curva de disociación de la hemoglobina (162, 258). Este desplazamiento tiene, según Woodson (258), un valor medio próximo a 4 mm Hg, tal y como se desprende del estudio de diversos trabajos sobre el tema. Este incremento en la $p50$ queda justificado por una elevación concomitante de un 40 % aproximadamente en el contenido eritrocitario en 2,3-DPG (162, 258). En este sentido, Oski et al. (162) han encontrado en cinco cardiopatías congénitas cianosantes un valor medio de 2,3-DPG de 7.036 ± 1.696 mM; este mismo grupo de investigadores (163) en un estudio posterior y más amplio, ya que incluía a 20 enfermos todos ellos con una pO_2 arterial inferior a 60 mm Hg, han comprobado cómo la concentración media del fosfoéster se situaba en 6.435 ± 1.181 mM.

En estos procesos congénitos con "shunt" de derecha a izquierda parece ser que existe una correlación inversa entre el 2,3-DPG y la pO_2 arterial (163, 258) que, sin embargo, no se puede poner de manifiesto en los lactantes de menos de tres meses de edad, ya que en ellos la interacción del organofosfato con la HbF no es la óptima (163), como ya decíamos en capítulos anteriores.

Los mecanismos patofisiológicos capaces de poner en relación la gravedad clínica de estos enfermos con la $p50$ y el 2,3-DPG deben de ser varios; además de la hipoxia, ya mencionada, otro

factor que podría influir sobre el fosfoderivado en estos casos es el pH plasmático. Efectivamente, en diversos estudios se ha podido objetivar una cierta tendencia a la alcalosis respiratoria que, sin embargo, por su pequeña magnitud sólo parcialmente podría explicar las variaciones observadas en el 2,3-DPG (258). En consecuencia, parece evidente que en estos enfermos el aumento de la desoxihemoglobina circulante debe de ser el factor principal regulador de la tasa del fosfoglicerato y por ende de la p50, mientras que el incremento en el pH desempeñaría un papel de una importancia secundaria; otros factores como el fosfato sérico inorgánico, ciertas hormonas o metabolitos normales en exceso o determinados fármacos podrían tener también quizás alguna influencia que, realmente, no ha sido aún demostrada (258). El número de casos estudiados es pequeño y además no en todos ellos se han determinado simultáneamente los valores del pH y los gases respiratorios en sangre, la tasa de hemoglobina, la p50 ó la concentración de 2,3-DPG, por lo que las conclusiones no pueden ser totalmente válidas.

3. *La anemia crónica*

No hay acuerdo general en definir lo que se debe de entender por anemia. Algunos estudios se basan, para la definición del síndrome anémico, en la concentración de hemoglobina periférica, al considerar que la oxigenación celular depende esencialmente de ella; otros autores, por el contrario, creen que más bien debe de valorarse el contenido total de la hemoproteína en el organismo. Inmediatamente después de una hemorragia aguda la tasa de hemoglobina circulante es normal, mientras que, evidentemente, la hemoglobina corporal total se encuentra disminuida. En el curso del embarazo sucede lo contrario, al producirse un descenso en la concentración del pigmento circulante, mientras que su masa total está aumentada. Parece poder deducirse, a la vista de estos y otros ejemplos similares, que el procedimiento más adecuado para definir la anemia será aquél que esté basado en la valoración de la capacidad con la que la sangre aporta el oxígeno necesario a los tejidos; entre otros factores esta capacidad depende no sólo de la tasa de hemoglobina periférica, sino también de la posición y de la forma de la curva de saturación del pigmento y del grado de vascularización de cada órgano. De todas formas, desde un punto de vista práctico, y ante la imposibilidad de tener en cuenta simultáneamente todos estos factores en cada caso individual, parece razonable definir la anemia sobre la base de la concentración de hemoglobina circulante (104).

La sangre del enfermo anémico muestra una menor capacidad para cumplir su función primaria —el transporte del oxígeno— de forma adecuada; al disminuir el número de hematíes circulantes, eslabón esencial en la cadena que es este transporte, las demandas celulares del gas pueden no ser suficientemente satisfechas (24, 104, 249). El resultado es la hipoxia "anémica" de los tejidos. El organismo humano pone en funcionamiento, como consecuencia de este déficit de aporte de

oxígeno —de esta anemia crónica—, una serie de mecanismos compensadores, algunos de ellos ya comentados con anterioridad. Son principalmente la vasodilatación periférica con desviación de la sangre hacia áreas vitales, el aumento del gasto cardíaco con una elevación concordante en la velocidad circulatoria, los ajustes respiratorios y la modificación en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (24, 104, 202, 249). Todos estos mecanismos fisiológicos, aunque aparecen de una forma general en todos los tipos de anemia y constituyen un modo coherente de respuesta homeostática, no son estrictamente aplicables en su grado o en su momento de puesta en funcionamiento a cada caso en particular; además, pueden ser desbordados con relativa facilidad. La observación clínica de que los enfermos anémicos no suelen tener sintomatología en reposo, pero toleran mal, en cambio, pequeños ejercicios físicos, tiene su explicación probablemente en esta última circunstancia (24, 104, 249). Por la misma razón, las manifestaciones subjetivas de la anemia no se exteriorizan en muchas ocasiones, a no ser que la tasa de hemoglobina llegue a ser tan baja como para que cualquier pequeño incremento en la demanda periférica de oxígeno no pueda ser compensado por los diversos mecanismos de adaptación fisiológica (112, 249), cuya importancia resulta variable según la gravedad de cada caso (24). El volumen minuto cardíaco permanece constante mientras que el nivel de hemoglobina no desciende por debajo de los 8 ó 10 g % (24, 104); a partir de ese momento comienza a elevarse de modo progresivo y en relación lineal con el grado de anemia y puede alcanzar hasta cuatro o cinco veces los valores basales (104, 202). Inicialmente ello se consigue a expensas de un mayor volumen sistólico; sólo en el curso de anemias graves aparecerá una taquicardia. Con el mismo grado de ejercicio físico la frecuencia cardíaca es mayor que la que es dado apreciar en sujetos no anémicos (24, 202). Las resistencias vasculares periféricas así como la viscosidad de la sangre disminuyen; la velocidad circulatoria aumenta. El mecanismo exacto que pone en marcha esta respuesta cardiocirculatoria no es conocido; el inconveniente de ella estriba en que precisa, para llevarse a cabo, de un incremento en el consumo miocárdico de oxígeno, que ya en condiciones basales, por las peculiaridades de la circulación coronaria, se encuentra en una situación límite (75, 104).

Los tejidos extraen normalmente, en el sujeto sano, unos 5 ml de los 20 ml de oxígeno que transportan cada 100 ml de sangre. El resto constituye una reserva que puede ser utilizada en las diversas situaciones que así lo requieran. En aquellos casos en los que el nivel de hemoglobina desciende por debajo de sus valores normales es preciso, con el fin de que los tejidos obtengan los mismos 5 ml de oxígeno que son necesarios para cubrir su demanda energética, que el porcentaje de extracción sea mayor. La mencionada reserva del gas respiratorio, que para una persona sana es de alrededor del 75 % del contenido arterial total de oxígeno, pasa así a ser mucho menor en el enfermo anémico, en relación con la gravedad de su déficit de hemoglobina (24, 249). En la anemia crónica severa puede existir un cierto grado de desaturación arterial de O₂, que suele situarse alrededor del 80 %; ello se debe en parte a una capacidad de difusión pulmonar discretamente alterada y a un efecto "shunt" por admisión venosa algo aumentado (104). Además, el su-

jeto anémico en reposo tiene en la sangre venosa mezclada una pO_2 y un contenido en oxígeno disminuidos, expresión, ambos fenómenos, de la menor reserva venosa del gas respiratorio; a esto último contribuye el descenso en la tasa y en la afinidad por el oxígeno de la hemoglobina circulante. Aún no se ha definido con exactitud cuál es la contribución real de esta reducción en la apetencia del pigmento por el O_2 en la homeostasis de la oxigenación tisular en estos casos (24, 104, 202, 233). Desde 1927 es conocido el hecho de que en la anemia crónica existe un desplazamiento hacia la derecha en la curva de disociación de la hemoglobina (13, 75, 99, 104, 202, 208, 233, 249). Este desplazamiento no modifica la saturación arterial de oxígeno a nivel pulmonar, por tener lugar a unos valores de pO_2 que se inscriben en la parte alta y plana de la curva (sólo en casos extremos podría aparecer un mínimo grado de desaturación que se añadiría a la originada por los otros mecanismos antes comentados); pero, por el contrario, sí que facilita la cesión del oxígeno a nivel tisular, ya que aquí la pO_2 se sitúa en la porción pendiente o recta de la curva (Gráfica I) (104). La desviación a la derecha en la curva de disociación reporta un gran beneficio a los enfermos anémicos, ya que permite un incremento, variable entre un 25 y un 65 %, en la utilización del oxígeno arterial (104). El origen del desplazamiento puede ser múltiple. En las anemias graves se pierde parte de la acción amortiguadora del pH que proporciona la hemoglobina; en estas condiciones cuando, procedente de los tejidos, entra en la sangre una misma cantidad de CO_2 , se produce una mayor concentración de hidrogeniones que cuando los niveles de hemoglobina son normales. El aumento en la pCO_2 y la disminución en el pH consiguientes son dos causas que actúan sinérgicamente para desplazar la curva de saturación hacia la derecha. Los polifosfatos orgánicos eritrocitarios —el 2,3-DPG y el ATP primordialmente— contribuyen en el mismo sentido (75, 202, 249).

En efecto, los déficits de masa eritrocítica suelen acompañarse de incrementos en el contenido en 2,3-DPG de los hematíes, contenido que aumenta en proporción inversa a la deficiencia en hemoglobina (44, 75, 80, 95, 112, 133, 161, 190, 200, 201, 202, 240, 244). En contraste con lo que sucede con el gasto cardíaco, las variaciones en el organofosfato son ya apreciables en pequeños grados de anemia. La $p50$ media es del orden de 30 mm Hg cuando la tasa de hemoglobina circulante alcanza los 8 g %. Este descenso en la afinidad del pigmento por el oxígeno, aunque aparentemente pequeño, proporciona un 25 % de incremento en la oferta del gas a los tejidos, sin variar para ello la pO_2 arterial (24, 240). Por cada gramo de descenso en el nivel de hemoglobina se produce una elevación de 0.23 mM, aproximadamente, en el 2,3-DPG (249). Existe, sin embargo, una variación individual considerable en la respuesta del fosfoéster a la anemia, por razones no siempre evidentes y sólo a veces atribuibles a factores, tales como el pH o el fosfato inorgánico, conocidos modificadores de la concentración del organofosfato (24). Ello explicaría por qué la sintomatología varía de manera considerable de unos a otros enfermos, aunque presenten el mismo grado de anemia; para una misma tasa de hemoglobina circulante la ausencia de elevación en los niveles eritrocíticos del 2,3-DPG favorecería la aparición más precoz de manifestacio-

nes clínicas que, como la disnea o las palpitaciones, son reflejo de las reacciones compensadoras cardiorrespiratorias (24, 112, 185, 240). La elevación en el contenido del glicerofosfato en el hematíe consigue que la extracción de oxígeno por los tejidos sea mayor, con lo que, en definitiva, la hemoglobina tiene en el territorio capilar un comportamiento mucho más "funcional"; de esta manera, la hipoxia hística no es tan intensa como la que teóricamente correspondería por la reducción en la tasa de la hemoproteína circulante (75, 112, 133, 145, 190, 202, 240).

En los casos de anemia leve el 2,3-DPG es el mecanismo principal a través del cual el organismo trata de adaptarse a la hipoxia, mientras que cuando la anemia es más pronunciada la elevación en el gasto cardíaco quizás sea el factor más importante a este respecto (24). La rapidez de respuesta de estos dos mecanismos compensadores es diferente; el 2,3-DPG resulta más lento, con un tiempo medio de aparición aproximadamente de diez horas, en comparación con el gasto cardíaco, cuya respuesta es casi inmediata (24).

En aquellos casos en los que la anemia se complica con trastornos en el equilibrio ácido-base los dos factores —la hipoxia y el pH— influyen sobre el 2,3-DPG y estos dos últimos —el pH y el 2,3-DPG—, a su vez, sobre la p50. El valor de esta última depende así, en estos casos de anemia complicada, de la sinergia de dos efectos independientes, aunque interrelacionados; la importancia relativa de ambos efectos sólo puede juzgarse si se toma en consideración tanto el valor de la p50 "in vitro", es decir, corregida para un pH igual a 7.40, como el de la p50 "in vivo" o actual (24, 161).

Cuando no existen factores extrínsecos que modifiquen la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG, esta concentración es de una gran sensibilidad, en los casos de anemia "simple", frente a las pequeñas variaciones en la tasa de hemoglobina (24, 240). A pesar de ello, en ocasiones, el 2,3-DPG puede no estar en relación directa con el nivel periférico del pigmento respiratorio en aquellos enfermos que presentan un déficit repentino de masa eritrocítica —tal es el caso de las hemorragias agudas— o en aquellos otros en los que el índice hematocrito no es fiel reflejo de dicho déficit. Pero con excepción de estas circunstancias, la concentración del 2,3-DPG puede llegar a ser un indicador de anemia más útil que lo que puedan ser otros parámetros mejor conocidos (24, 71, 185, 240, 242).

4. La insuficiencia cardíaca

La p50 y el 2,3-DPG eritrocitario suelen estar aumentados en los enfermos con insuficiencia cardíaca congestiva (83, 233, 258). En la elevación de la p50 "in vivo" en estos casos juegan un papel de relativa importancia no solamente el fosfoglicerato, sino también el pH y la pCO₂. No parecen existir estudios documentados sobre el efecto de la temperatura corporal a este respecto, aunque "a priori" no debe de ser de gran relieve (258). La acción de la pCO₂ es cuantitativamente pequeña y por ello de un influjo muy secundario a la hora de modificar la p50 en los enfermos

con insuficiencia cardíaca. El efecto del pH, por el contrario, sí que parece considerable y debe de provocar en ellos una diferencia apreciable entre la p50 "in vitro" e "in vivo". El pH plasmático suele ser en estos casos normal o, con más frecuencia, ligeramente alcalino, sobre todo después del tratamiento diurético (258). La elevación en el 2,3-DPG eritrocitario, el factor de mayor importancia a la hora de influir sobre la p50, puede estar inducida por el pH, pero más probablemente lo está por los cambios en el estado de oxigenación de los hematíes, que son consecuencia de las anomalías hemodinámicas propias de la insuficiencia cardíaca. Efectivamente, parece que en esta situación la correlación más estrecha se establece entre el 2,3-DPG y la saturación de oxígeno de la hemoglobina en la sangre venosa mezclada (83, 258).

5. La enfermedad respiratoria crónica

En la enfermedad pulmonar obstructiva crónica el valor de la p50 se ha encontrado elevado, normal o disminuido (63, 82, 99, 251, 258). El margen de variabilidad de este parámetro es incluso amplio, lo que sugiere que estas diferencias no hacen sino reflejar la falta de uniformidad en la selección de los enfermos estudiados por cada grupo de trabajo. Parece ser acuerdo general que las alteraciones en la p50 son la consecuencia de las variaciones en los niveles intracorpúsculares del 2,3-DPG, aunque hay autores que disienten a este respecto, ya que, también aquí, la variabilidad de los hallazgos encontrados por los distintos investigadores es amplia (38, 43, 63, 75, 82, 84, 99, 103, 118, 162, 167, 201, 233, 258). La explicación de esta discrepancia en cuanto a los resultados no ha sido aún aclarada, pero parece probable que entre las causas determinantes deban de considerarse factores tales como el escaso número de enfermos estudiados, la ausencia de homogeneidad de criterio en su selección, la falta de valoración sistemática del efecto del pH, de la saturación arterial de oxígeno o de la pO₂ ó la existencia de una insuficiencia cardíaca concomitante. Acaso no deba esto sorprendernos a la vista de la fluctuación y heterogeneidad de las manifestaciones clínicas, de la variabilidad de la poliglobulia y de los gases sanguíneos y sobre todo de lo limitado de los estudios efectuados hasta ahora, en pocos de los cuales se han relacionado entre sí todas estas variables, que suelen modificar a la p50 y al 2,3-DPG, y en muchos menos aún se ha pretendido determinar su influencia combinada. Por regla general no se han tenido en cuenta circunstancias tales como la gravedad del cuadro clínico, presencia de insuficiencia cardíaca congestiva, administración de fármacos o de oxígeno con anterioridad al estudio, efectos de la sangría, etc. Finalmente, conviene recordar que mientras que los cambios en el pH, la pO₂ ó el gasto cardíaco se producen con rapidez y oscilan considerablemente en dependencia de la actividad física, la posición corporal o la digestión, las variaciones en la p50 ó en el 2,3-DPG necesitan más tiempo, horas o incluso días, para aparecer (38, 63, 103, 167, 251, 258), por lo que, en la valoración de los resultados, debería considerarse el momento del estudio.

Los niveles del 2,3-DPG suelen estar elevados en la hipoxemia de la enfermedad broncopul-

monar obstructiva crónica, aunque esta elevación es menos marcada y menos predecible que la que aparece en otras situaciones caracterizadas también por hipoxia hística. Efectivamente, algunos enfermos, con francos descensos en la pO_2 arterial, muestran valores normales de 2,3-DPG; en ciertas ocasiones parece claro que el origen de esta aparente contradicción debe de atribuirse a la presencia en ellos de una acidosis respiratoria, trastorno del equilibrio ácido-base frecuente en estos casos (18, 38, 63, 75, 99, 162, 167, 201, 233). En otras ocasiones, sin embargo, deben de buscarse otros factores adicionales, independientemente del pH plasmático, que puedan explicar la variabilidad de los resultados. Entre ellos cabe citar, por su considerable importancia, la presencia de una poliglobulia secundaria compensadora. Los estudios comparativos de grupos de enfermos afectados de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, con o sin eritrocitosis reactiva y con o sin acidosis respiratoria, deberán aclarar en qué casos y por qué motivos se hace necesario que el 2,3-DPG actúe como un mecanismo de adaptación a la hipoxia (63, 134). En este sentido sería imprescindible que, junto al análisis del fosfoglicerato, en cada estudio se valorasen simultáneamente el pH plasmático, los gases respiratorios en sangre arterial, la saturación de oxígeno en sangre venosa, la tasa de hemoglobina y el índice hematocrito (103, 201). De gran ayuda serían, además, las determinaciones de la $p50$, tanto "in vivo" como "in vitro", y de la masa eritrocítica (63, 233, 258). Por todo ello, aunque la relación entre la hipoxemia y el 2,3-DPG del hematíe parece indudable, en ningún caso es simple, ya que con relativa frecuencia se ve oscurecida por multitud de factores extrínsecos, sólo algunos de los cuales son conocidos en el momento actual (38, 63). Puede afirmarse, incluso, que en estos enfermos la regulación de la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG en condiciones basales difiere de la que se efectúa en las situaciones de hipoxia aguda. En el primer caso el estado de oxigenación de los eritrocitos parece ser lo que prevalece, mientras que en el segundo es el pH plasmático, indudablemente, lo fundamental (38, 118).

Podemos concluir con la idea de que la elevación en el contenido en 2,3-DPG del hematíe es un mecanismo compensador de la hipoxemia propia de la enfermedad respiratoria crónica, al disminuir la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y al facilitar, por ello, su liberación a nivel tisular (38, 63, 103, 118, 167); sin embargo, no conviene hacer generalizaciones al respecto en esta situación clínica, ya que las variaciones individuales son importantes, sobre todo cuando coexisten anomalías en el equilibrio ácido-base (63, 103, 251). Si bien la insuficiencia respiratoria ha sido estudiada hasta ahora sobre la base del análisis de los gases respiratorios en sangre arterial y de los tests de función pulmonar, parece que en el momento actual, y más aún en el futuro, se hace necesario añadir otras determinaciones, tales como las de la $p50$ y del 2,3-DPG intraeritrocitario, principalmente; se alcanzará así una mejor comprensión de la homeostasis del transporte de oxígeno en estos enfermos (75, 103).

II. El 2,3-DPG en las hemoglobinopatías y en las enzimopatías glicolíticas eritrocitarias

1. El 2,3-DPG en las hemoglobinopatías

Las enfermedades que se caracterizan por un desorden en la biosíntesis de la hemoglobina pueden en principio corresponder a dos tipos patogénicos diferentes: en el primero, la formación de la proteína se encuentra reducida, pero las cadenas polipeptídicas, una vez elaboradas, tienen una secuencia normal de aminoácidos; en el segundo tipo, la estructura primaria de la cadena proteica es anormal. En el primer grupo se incluyen las talasemias, mientras que en el segundo se integran las hemoglobinopatías propiamente dichas (113). Las anomalías en la estructura de la hemoglobina pueden asociarse a diversas alteraciones en la forma y en la posición de su curva de disociación con el oxígeno; sólo a veces el 2,3-DPG está implicado en ellas. Tres mecanismos distintos pueden, en principio, explicar la patogenia de las citadas alteraciones (4, 24, 46, 104, 134, 201, 242, 262).

- a) Algunas hemoglobinas anormales tienen, cuando son estudiadas "in vitro", en estado purificado, una afinidad normal por el oxígeno. La hemólisis que ocasionan "in vivo" es causa de una reticulocitosis; como ya hemos comentado, los reticulocitos poseen una tasa de 2,3-DPG mayor que la de los normocitos, por lo que no es de extrañar que en estas situaciones la p50 se encuentre elevada. Este es el caso de la hemoglobina S (46, 64, 104, 196, 197).
- b) Cada vez se describen con mayor frecuencia alteraciones en la estructura de la hemoglobina que se caracterizan porque modifican la capacidad de combinación reversible del tetrámero con el oxígeno, sin que en ello intervenga para nada el 2,3-DPG. Estas hemoglobinopatías cursan con una p50 a veces elevada y en otras ocasiones reducida; la "n" de Hill suele mostrar valores también anómalos (4, 24, 25, 104, 113, 225, 242).
- c) Finalmente, la modificación en la p50 puede ser el resultado de un cambio en la aptencia de la hemoglobina por el 2,3-DPG. Esto sucede tanto con tetrámeros patológicos, como la Hb Hiroshima, como con algunas de las denominadas formas menores de la hemoglobina del adulto, tal como la HbF; en ambos casos, la fijación del 2,3-DPG a la proteína puede bien no producirse en absoluto o bien hacerlo de modo incompleto (4, 18, 23, 24, 25, 26, 29, 46, 47, 125, 134, 163, 182, 201, 208, 225, 242).

A continuación vamos a comentar algunos aspectos, que creemos de interés, en cuanto a la homeostasis del transporte de oxígeno, referentes a cada uno de los apartados que acabamos de enunciar.

En ocho niños con β -talasemia homocigótica Pearson (168) encuentra unos niveles de 2,3-DPG elevados (5.94 ± 0.81 mM), aunque inferiores a los valores teóricos que cabría esperar por su grado de anemia, es decir, por su tasa de hemoglobina circulante (7.5 ± 1.5 g %). En sus casos ni la cifra del pH plasmático ni la concentración del fosfato sérico inorgánico parecía que pudieran

explicar completamente este fenómeno. El medio en el que se desenvuelve el hematíe del enfermo con β -talasemia homocigótica podría originar ciertas anomalías metabólicas en el eritrocito que comprometerían su respuesta a la anemia, con lo que ésta sería en él mucho más grave, al no ser adecuadamente compensada por el mecanismo del 2,3-DPG eritrocitario (168). Por el contrario, en 25 adultos con β -talasemia menor, la respuesta del 2,3-DPG fue la apropiada al pequeño grado de anemia que presentaban los enfermos; la p50 en ellos se mantuvo dentro de límites normales y no por encima de ellos, como podría suponerse, por motivos que no fueron conocidos por los autores (168, 169).

Parece ser acuerdo unánime el que los enfermos con anemia drepanocítica toleran relativamente bien los bajos niveles de hemoglobina circulante, al mostrar un desplazamiento hacia la derecha en la curva de saturación con el oxígeno. En estos enfermos la concentración eritrocítica de 2,3-DPG se encuentra elevada (64, 129, 196, 197), lo que podría explicar el incremento en la p50; la buena tolerancia a la anemia crónica y la aceptable evolución clínica de estos casos tienen así una justificación fisiopatológica (188). Pero es que además, recientes avances en el estudio de la anemia de células falciformes han hecho surgir la posibilidad de que las variaciones en la tasa intraeritrocitaria del 2,3-DPG puedan resultar útiles a efectos terapéuticos en esta enfermedad. Esta hipótesis es el resultado de la observación de los efectos del tratamiento con cianatos; estos agentes pueden lograr mayor supervivencia de los hematíes y niveles superiores de hemoglobina. Los cianatos bloquean la unión del 2,3-DPG al pigmento respiratorio al unirse irreversiblemente con las valinas N-terminales de las cadenas α y β de la hemoglobina; la curva de disociación con el oxígeno es así desplazada hacia la izquierda, por lo que el glóbulo rojo resiste mucho mejor a la desoxigenación y por ende a la falciformación, ya que, como es sabido, sólo la desoxihemoglobina se polimeriza (42, 129). A la vista de estos hechos cabe pensar si también otras sustancias que, al inhibir o disminuir la síntesis eritrocitaria del 2,3-DPG, desvíen hacia la izquierda a la curva de saturación de la hemoglobina, puedan asimismo ser útiles en el tratamiento de la drepanocitosis (41).

El detallado conocimiento, alcanzado a lo largo de los últimos años, de la estructura molecular de la hemoglobina ha permitido relacionar ciertas anomalías de porciones específicas del pigmento con anomalías funcionales particulares del tetrámero, tales como su afinidad por el oxígeno, su estabilidad en solución, etc. (24, 53).

En determinadas hemoglobinas anormales la capacidad de oxigenación reversible puede estar alterada, de tal forma que es posible la aparición de una de las tres circunstancias siguientes (104):

- a) El oxígeno se une al grupo heme con una apetencia mayor o menor de lo normal. Son las hemoglobinas denominadas de alta o baja afinidad por el oxígeno.
- b) El átomo de hierro del grupo heme se mantiene de forma permanente en estado oxidado o férrico. Son las hemoglobinas M (Hb M).

c) El grupo heme falta en alguna cadena polipeptídica —lógicamente anómala— de la molécula tetramérica de hemoglobina.

En las Hb M suele existir una sustitución en alguno de los aminoácidos situados próximos al punto de unión de la ferroprotoporfirina a la cadena α ó β . Con ello el átomo de hierro pasa a ser trivalente en el grupo heme, e inservible, por lo tanto, desde el punto de vista de la función transportadora de oxígeno. Los mecanismos reductores normales de la célula son incapaces de devolver este hierro al estado ferroso, por lo que el trastorno perdura mientras circula el eritrocito (104).

Las sustituciones de aminoácidos en aquellas zonas de la molécula del tetrámero de hemoglobina que son claves por su intervención en los cambios de conformación espacial que conlleva la oxigenación —el efecto heme-heme— indudablemente alteran las propiedades respiratorias del pigmento. Si estas sustituciones favorecen la estabilización de la conformación oxigenada el resultado será una hemoglobina de alta afinidad por el oxígeno y por ello con una $p50$ descendida. Ejemplos en este sentido son las hemoglobinas Chesapeake, Kempsey, Yakima, J-Capetown, Rainier, Zürich, Ypsi, St. Mary, Olympia, Bethesda, Brigham y hasta por lo menos 17 distintas descritas hasta 1975 desde la primera publicación en 1965 (4, 24, 25, 242). Las mutaciones suelen afectar a la interfase $\alpha1\beta2$ y muy rara vez a la interfase $\alpha1\beta1$ (Hb San Diego). Estas hemoglobinopatías representan un desorden aislado dentro de la secuencia de fenómenos de la fisiología del transporte de oxígeno, para cuya compensación el organismo dispone de tres mecanismos distintos: un incremento en la masa de hematíes, en el gasto cardíaco o en la liberación de O_2 a los tejidos. Parece ser que el primero de ellos, que se pone en marcha a través de un aumento en la secreción de eritropoyetina, es en estas situaciones el más importante. No es de extrañar, por tanto, que se haya comprobado que muchas de las policitemias catalogadas antiguamente como familiares son en realidad la consecuencia de una hemoglobina anómala con alta afinidad por el oxígeno (4, 24, 104, 113, 225). Desde el punto de vista del análisis de su curva de saturación suele ser característico, no sólo una $p50$ baja, generalmente entre 10 y 15 mm Hg, sino también un valor de la "n" de Hill reducido (1.0 para la Hb Bethesda, 1.1 para la Hb Yakima, 1.3 para la Hb Rainier, 1.8 para la Hb Chesapeake, etc.); esto último es la expresión numérica de la pérdida de la forma sigmoide de la curva de disociación normal, pérdida que es ocasionada por la ausencia total o parcial de la interacción heme-heme que, como hemos dicho, es la característica definitoria de estas hemoglobinas anormales (24, 113, 225).

Se han descrito, por el contrario, algunas sustituciones de aminoácidos en las cadenas polipeptídicas del tetrámero que conducen a hemoglobinas con baja afinidad por el oxígeno y por tanto con una curva de saturación desplazada hacia la derecha — $p50$ elevada— y una "n" de Hill normal o alta. Ejemplos en este sentido son las hemoglobinas Kansas, Yoshizuka, Seattle, Milwaukee, etcétera. Suelen cursar de modo asintomático, salvo en las ocasiones en las que se origina un pequeño grado de anemia o de cianosis (24, 53, 104, 113, 225, 242).

Junto a estas hemoglobinopatías en las que la alteración en la afinidad por el oxígeno suele ser el resultado directo de un defecto en la interacción heme-heme, existen otras en las que la mencionada alteración es la consecuencia de una inadecuada relación entre el 2,3-DPG y la molécula tetramérica de hemoglobina. Este es el caso de la Hb F y de algunas hemoglobinas anormales, como las denominadas Hiroshima, Little Rock, Syracuse, etc. (4, 18, 23, 24, 25, 26, 29, 46, 47, 104, 125, 163, 182, 201, 225, 239, 242).

Para asegurar la captación de oxígeno a las bajas presiones parciales habituales antes del nacimiento (la pO_2 en la vena umbilical es de unos 40 mm Hg) el feto necesita poseer una sangre de alta afinidad por el oxígeno en comparación con la que tiene la sangre materna (18, 24, 25, 26, 47, 104, 125, 167, 201). Este fenómeno, conocido desde hace años, siempre ha sido considerado como una gran ventaja desde el punto de vista fisiológico, ya que asegura el transporte del gas a través de la placenta. Mediante tres mecanismos distintos las diferentes especies animales alcanzan el mencionado objetivo, es decir, conseguir que la curva de disociación de la hemoglobina en la sangre fetal se encuentre desplazada hacia la izquierda, con una $p50$ aproximada de unos 20 mm Hg; estos tres mecanismos son los siguientes (47):

- a) La hemoglobina fetal puede mostrar una alta afinidad por el oxígeno merced a sus características moleculares intrínsecas y con independencia del influjo de cualquier "cofactor" intraglobular. Así sucede en animales como la oveja o la cabra.
- b) La hemoglobina fetal puede tener la propiedad de no interactuar de modo adecuado con el "cofactor" intracorpúscular, con el 2,3-DPG. Tal ocurre en el feto humano.
- c) El eritrocito puede mostrar, en épocas previas al nacimiento, un descenso en su concentración en el fosfoglicerato, que tiende a normalizarse tras el parto. Este es el caso en animales como el caballo, el cerdo o el perro.

Los dos primeros mecanismos requieren la presencia de una hemoglobina fetal (Hb F) que difiera estructural y funcionalmente de la hemoglobina del adulto (Hb A). Esto no es preciso, sin embargo, en el tercero de ellos.

En efecto, ya que los niveles de 2,3-DPG de los hematíes del recién nacido son similares a los del adulto y ya que la afinidad por el oxígeno de la Hb F es igual a la de la Hb A cuando ambas están en una solución "in vitro", libre del fosfoderivado, es lógico suponer que el diferente comportamiento "in vivo" de las dos hemoglobinas en cuanto a su relación con el gas respiratorio deriva de un defecto en la interacción de la Hb F con el 2,3-DPG (23, 24, 25, 26, 29, 46, 125, 163, 208, 225, 239). La menor capacidad de unión del fosfoéster a la Hb F se debe a que el residuo histidina 143, normal en la cadena β de la Hb A, ha sido sustituido por una serina en la cadena γ de la Hb F (18, 24, 25, 29, 125, 163, 225, 239). Con ello, el efecto helotrópico del organofosfato disminuye drásticamente y por lo tanto también la $p50$ de la curva de disociación del oxígeno de la hemoglobina (18, 29). La mayor afinidad por el gas respiratorio de la sangre fetal humana tiene así su interpretación a nivel molecular (225).



Sin embargo, y a pesar de todo lo que hasta ahora hemos comentado, la ventaja real de la mayor apetencia por el oxígeno de la Hb F no es del todo conocida, ya que madres con hemoglobinas de alta afinidad tienen hijos normales, sin problemas antes o durante el parto, a pesar de que la p50 materna puede ser incluso inferior a 15 mm Hg; además, transfusiones intraútero de sangre de adultos no parecen causar ningún efecto adverso o perjudicial en la oxigenación fetal (47).

2. El 2,3-DPG en las enzimopatías glicolíticas eritrocitarias

La determinación de la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG puede ser de utilidad en la identificación del paso metabólico alterado en una enzimopatía de la vía glicolítica del hematíe, salvo en aquellos casos en los que la actividad del "shunt" de las pentosas se encuentre incrementada y permita un flujo normal a través de la vía de Embden-Meyerhoff (59). En general, las deficiencias enzimáticas de las reacciones situadas en la glicolisis anaerobia entre la glucosa y la derivación de Rapoport y Lübering tienden a disminuir el contenido en 2,3-DPG de los hematíes; esto es típicamente lo que sucede en el déficit de hexoquinasa en el que, a pesar del síndrome anémico por hemólisis crónica con el que cursa el proceso, la p50 suele estar descendida. Estos enfermos tienen, por ello, un doble defecto en el transporte de oxígeno a los tejidos, con lo que su capacidad se encuentra muy limitada y la anemia es en ellos especialmente grave (83, 99, 125, 147, 163, 233). Algo parecido sucede en las deficiencias en fosfofructoquinasa, en las que puede detectarse hasta un 50 % de reducción en la tasa del 2,3-DPG (229).

Por el contrario, en los defectos enzimáticos de las reacciones metabólicas glicolíticas situadas entre la derivación del 2,3-DPG y el piruvato las concentraciones del fosfoéster suelen estar elevadas y por ello también el valor de la p50. En este sentido es clásico el ejemplo del déficit en piruvatoquinasa, en el que puede detectarse un incremento de hasta un 80 % en el 2,3-DPG eritrocitario (64, 147, 202, 233); en estos casos, niveles de hemoglobina circulante de 9 g % son capaces de liberar tanto oxígeno a los tejidos como 15 g % en los sujetos normales (26). Por ello, el síndrome anémico del déficit de piruvatoquinasa es especialmente bien tolerado (147).

Las deficiencias en difosfogliceratomutasa, de las que sólo se han publicado siete trabajos hasta 1978 (237), suelen cursar con una anemia hemolítica congénita no esferocítica, ictericia y hepatoesplenomegalia; el mecanismo patogénico exacto que conduce a la hemólisis no es conocido. La herencia en este proceso se ha postulado como autosómica recesiva. Los valores de la p50 suelen estar descendidos, entre 15 y 20 mm Hg, y la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG suele ser menor al 50 % del nivel normal (172, 194, 236, 237), con casos en los que es incluso indetectable (172, 237).

III. El 2,3-DPG en la diabetes mellitus y en otros trastornos endocrinos y metabólicos

1. El 2,3-DPG en la diabetes mellitus

Al efectuar un estudio sistemático del 2,3-DPG eritrocitario en la diabetes mellitus es necesario diferenciar entre dos situaciones clínicas totalmente distintas: por un lado la de la diabetes estable o compensada y por otro la de la cetoacidosis diabética.

Los enfermos diabéticos en régimen ambulatorio, no acidóticos y estables desde un punto de vista clínico, tienden a mostrar unos valores elevados de 2,3-DPG, aunque tales valores son algo contradictorios cuando se revisa la bibliografía. Mientras que algunos autores refieren haber encontrado niveles normales (7, 8, 193) ó incluso disminuidos (65), otros, por el contrario, comprueban cómo sus casos presentan cifras superiores a las normales (16, 24, 67, 69, 70, 72). En realidad, la tasa del 2,3-DPG varía ampliamente de unos pacientes a otros y ello depende no sólo del control metabólico de la enfermedad, sino también del tratamiento que se haya seguido en los meses previos al estudio, así como, y aunque no exista acidosis, de la concentración de fosfato sérico inorgánico (8, 67, 72). Parece, efectivamente, que es posible demostrar, tanto en la diabetes juvenil insulino-dependiente como en la del adulto, una estrecha correlación entre el fosfato plasmático y los niveles de 2,3-DPG, correlación que no se consigue establecer con la glucemia (7, 67, 72).

A pesar de esta habitual tendencia de los enfermos diabéticos compensados a presentar una concentración de 2,3-DPG por encima de los límites normales, la p50 en ellos, tanto "in vivo" como "in vitro", suele ser normal (16, 24, 65, 69, 70, 72, 193). La mayoría de los pacientes afectados de una diabetes mellitus tienen una tasa superior a la habitual de la hemoglobina denominada A_{1c} , hemoglobina que se caracteriza por su defectuosa interacción con el 2,3-DPG (16, 24, 69, 70, 71, 72, 255). Esta forma menor de pigmento respiratorio del adulto tiene los extremos N-terminales de ambas cadenas β bloqueados por una glucosa, cuya unión es el resultado de una reacción lenta, no enzimática y de naturaleza irreversible. La proporción de la HbA_{1c} aumenta a medida que envejece el hematíe y en el enfermo diabético este aumento es, además, el reflejo de su control terapéutico —de los niveles de glucemia— en los tres o cuatro meses previos al momento de su determinación (255). No es de extrañar, por ello, que en estos enfermos, como consecuencia de la presencia de esta hemoglobina hasta cierto punto anómala, la curva de disociación con el oxígeno, medida en condiciones de concentraciones normales de todos sus efectores alostéricos, se encuentre desplazada hacia la izquierda (16). No es sino cuando se toman en consideración los niveles reales de 2,3-DPG —p50 "in vivo"— cuando la curva se sitúa en una posición normal (16, 24, 69, 70). En este sentido, parece probable que los enfermos diabéticos no acidóticos alcancen una respuesta homeostática a la hipoxia tisular sólo parcialmente eficaz, ya que el efecto del 2,3-DPG es contrarrestado por la HbA_{1c} . Para asegurar una adecuada oxigenación de los tejidos es ló-

gico, por ello, que los niveles del fosfoglicerato deban de estar aumentados (16, 67, 71, 72). Al ser la hipoxia un factor de considerable importancia en la patogenia de la microangiopatía diabética (67, 71, 72), se ha pretendido obtener mejoras en el pronóstico de la enfermedad al aumentar la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG por medios farmacológicos, tales como los tratamientos con difosfato cálcico por vía oral o con dietas ricas en fosfatos (67, 72). Los resultados a este respecto son aún inciertos.

En la cetoacidosis diabética la situación es diferente a la hasta ahora comentada. El 2,3-DPG en estos casos suele estar descendido (67, 68, 72, 120, 254) -2.02 ± 0.4 mM en los once enfermos de Alberti et al. (7) — y en estrecha correlación con el pH plasmático, la cetonemia, la lactacidemia y la hipoxemia, pero no con la glucemia (7). Este descenso está originado por la acidosis, que enlentece el flujo glicolítico al inhibir las actividades de enzimas como la PFK y la DPGM (7, 72). La disminución del pH, además, es la causa de un desplazamiento hacia la derecha en la curva de saturación de la hemoglobina, desplazamiento que es neutralizado por la caída en la concentración del 2,3-DPG, de tal forma que el valor de la p50 "in vivo" suele ser normal en las fases iniciales, previas al tratamiento, de la enfermedad (7, 67, 68, 72, 120). La p50 "in vitro", por el contrario, al ser medida a un pH de 7.40, está claramente descendida (72). Con los procedimientos terapéuticos habituales en este tipo de situaciones clínicas mejoran, en cuestión de horas, los diversos parámetros bioquímicos alterados a excepción del 2,3-DPG; este último permanece durante varios días por debajo de los límites normales (7, 67, 68, 72, 120). Por este motivo, algunos autores (7, 67, 72, 120) han llamado la atención sobre el peligro que encierra la corrección rápida del pH en la cetoacidosis diabética; la mayor afinidad de la hemoglobina por el oxígeno originada por los bajos niveles de glicerofosfato no es entonces neutralizada por el efecto Bohr del pH. Al afectarse de este modo la liberación del gas respiratorio a los tejidos el riesgo de hipoxia celular es evidente.

Las razones del retraso y de la lentitud en la recuperación de los valores normales del 2,3-DPG en la cetoacidosis diabética son inciertas. Parece ser que la hipofosfatemia tiene a este respecto un papel de cierta importancia, a semejanza de como sucede en las situaciones derivadas de la hiperalimentación parenteral (7, 67, 72, 120). La administración de insulina desde las fases más precoces del tratamiento de la cetosis no sólo ocasiona el paso de la glucosa y del potasio al interior de las células, sino también del fosfato inorgánico, necesario para la formación de la glucosa-6-fosfato. La hipofosfatemia no es sino el reflejo de esta circunstancia (7, 72). Los niveles del fosfato sérico inorgánico tardan en recuperarse varios días, por lo que la formación eritrocitaria del 2,3-DPG disminuye, al ser el fosfato cofactor de la PFK y de la GAPD; la concentración del fosfoéster no se normalizará —a pesar de que se haya corregido la acidosis metabólica— mientras dure la hipofosfatemia (67, 72). En este sentido, se ha indicado la conveniencia de tratar la cetoacidosis diabética, al menos en sus fases iniciales, con suplementos de fosfato inorgánico intravenoso, bajo la forma de sales de potasio. Ello favorecería una recuperación más precoz de los niveles

del 2,3-DPG y por lo tanto mejoraría la oxigenación tisular en las etapas iniciales de la enfermedad (7, 67, 120). Recientemente, sin embargo, se señala la posibilidad de aparición de diversos trastornos hidroelectrolíticos —hipocalcemias, hipomagnesemias, hiperfosfatemias— con este tipo de terapéuticas sustitutivas (254).

En conclusión: dos, al menos, parecen ser los factores que tienen especial relieve en la regulación de la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG en la diabetes mellitus, tanto en su forma estable o compensada como en situación de cetoacidosis: el pH plasmático y la fosfatemia (72).

2. El 2,3-DPG en otros trastornos endocrinos y metabólicos

En el hiperparatiroidismo primario, que cursa con bajos niveles de fosfatemia, se observa una disminución en el 2,3-DPG del hematíe, una mayor afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y con frecuencia una discreta eritrocitosis (242). Alteraciones similares es dado comprobar también en hipofosfatemias de otro origen, como pueden ser las secundarias a regímenes de hiperalimentación parenteral y a tratamientos prolongados por vía oral con hidróxido de aluminio, como los que se siguen habitualmente en enfermos mantenidos en programas de hemodiálisis periódica (99, 137, 138, 242). El "pool" de fosfatos inorgánicos del eritrocito muestra una estrecha dependencia de la concentración plasmática de fosfatos, ya que la transferencia entre uno y otro compartimentos —glóbulo rojo y plasma— se establece mediante una simple difusión pasiva (137, 138, 242). No es de extrañar, por lo tanto, conocido el importante papel que el fosfato inorgánico juega en la regulación de la glicolisis, que la hipofosfatemia se acompañe de una disminución en el contenido eritrocitario en 2,3-DPG (116, 135, 137, 148, 240, 242). A esta norma hace excepción la hipofosfatemia de la hiperventilación crónica, por cursar con alcalosis (242).

Los niveles extracelulares de fosfatos inorgánicos parecen, pues, críticos a la hora de mantener y regular el metabolismo, la función y por ende la supervivencia de los hematíes. En este sentido conviene recordar que en el curso de hipofosfatemias intensas y transitorias se han descrito crisis reversibles de hemólisis agudas, que han sido atribuidas a los comprobados bajos niveles eritrocitarios en ATP y 2,3-DPG ocasionados por el mencionado trastorno (116).

La hiperfosfatemia, por el contrario, suele ir acompañada de unas tasas de ATP y de 2,3-DPG elevadas; esto sucede en la insuficiencia renal crónica, en la que, además, intervienen otros factores (114, 135, 233, 242) como discutiremos más adelante, y en la hiperfosfatemia fisiológica de la infancia (242).

La influencia de los corticosteroides sobre el contenido en 2,3-DPG de los hematíes no ha sido aún definitivamente establecida. Incubaciones "in vitro" a 37° C de sangre total con metilprednisolona producen aumentos en los niveles eritrocitarios del organofosfato y en la p50 de la sangre, en dependencia del tiempo de incubación utilizado y de la concentración del esteroide en

el ensayo (39, 82, 90, 142, 242). Algo similar sucede cuando se administran estos fármacos "in vivo" por vía intravenosa. Las dosis farmacológicas que se emplean habitualmente en el tratamiento del shock endotóxico parece que incrementan el valor de la p50, aunque no siempre se haya demostrado que esto fuera debido a una elevación concomitante en el 2,3-DPG (82, 90, 91, 99, 142). En el momento actual es difícil poder precisar hasta qué punto tales cambios se deben a una acción directa de estas sustancias sobre la glicolisis eritrocitaria o más bien a un efecto indirecto mediado por otros factores, como pudieran ser las variaciones en el estado de oxigenación del eritrocito o en el pH plasmático (90, 91, 233); a este respecto conviene recordar la frecuencia con que la alcalosis metabólica acompaña a los tratamientos esteroideos (233).

Además de las hasta ahora comentadas, un gran número de sustancias hormonales parecen tener un cierto efecto sobre la p50 y el 2,3-DPG. Independientemente de las hormonas tiroideas, cuya acción será estudiada en detalle más adelante, la adrenalina, los andrógenos, la hormona somatotropa y la prostaglandina E₂ parecen poder incrementar, por uno u otro mecanismo, el contenido en el fosfoglicerato de los hematíes (182, 185, 242, 248); la insulina, por el contrario, parece de acción directa alguna sobre el metabolismo glicolítico eritrocitario (71, 120).

IV. El 2,3-DPG en la insuficiencia renal crónica

Parece ser un hecho comprobado por la generalidad de los autores (148, 150, 158, 160, 174) el que en la insuficiencia renal crónica la hemoglobina muestra una menor afinidad por el oxígeno. Tanto la acidosis metabólica, de aparición frecuente en este proceso, como un aumento en la concentración de los fosfatos orgánicos eritrocitarios pueden ser la causa de la mencionada alteración en la homeostasis de la oxigenación de los tejidos. Los niveles de ATP, pero sobre todo los de 2,3-DPG, se encuentran elevados en la uremia crónica, como ha podido ser demostrado en diversos trabajos a lo largo de los últimos años (56, 114, 135, 148, 158, 174, 252). Esta circunstancia parece reflejar un cierto estado hipermetabólico del hematíe, que no podría explicarse en absoluto por las anomalías del pH plasmático, propias de esta situación clínica, ya que éste, como hemos dicho, suele ser ácido y por ello depresor de la velocidad del flujo glicolítico general y de las concentraciones de los intermediarios metabólicos (139, 148). La elevación que experimenta el contenido en 2,3-DPG de los hematíes en la insuficiencia renal crónica puede tener su origen, al menos, en cuatro órdenes de fenómenos distintos: 1) la inmadurez y, por lo tanto, la mayor actividad enzimática de la población de hematíes circulantes; esta última aparece como consecuencia del componente hemolítico propio del síndrome anémico que se asocia a la enfermedad (139); 2) la hiperfosfatemia, cuya importancia real a este respecto no es totalmente conocida, pero sobre cuya decisiva influencia no parece existir ningún género de dudas (24, 56, 114, 134, 135, 139, 148, 174, 233, 242); 3) la presencia en el plasma del enfermo urémico de metabolitos estimulados.

res de la glicolisis del eritrocito, hasta ahora no conocidos y que se opondrían al efecto de la acidosis (139); una alternativa en este mismo orden de ideas sería la posibilidad sugerida por algunos autores (134) en el sentido de que el acúmulo de sulfatos en el plasma del enfermo renal crónico, al inhibir la actividad de la DPGP, sería el origen del aumento en el 2,3-DPG; y 4) la anemia, o quizás mejor, la situación de desoxigenación de la hemoglobina, propias del trastorno que nos ocupa, podrían por sí mismas, al liberar la inhibición enzimática de la DPGM, incrementar la tasa del fosfoglicerato (24, 56, 114, 134, 135, 148, 158, 174, 233).

Al efecto estimulador de la síntesis del 2,3-DPG ejercido por los mecanismos hasta ahora comentados se opondría el efecto inhibitor, ya conocido, sobre dicha síntesis de la acidosis (24, 56, 114, 135, 148, 150, 158, 174).

Vemos así cómo en la insuficiencia renal crónica aparecen simultáneamente diversas alteraciones en varios de los factores que intervienen en la regulación del metabolismo eritrocitario, pero sobre cuya importancia relativa existe gran controversia en el momento actual (139, 158). Quizás uno de los más importantes al respecto, por lo menos en lo que al 2,3-DPG se refiere, sea la anemia, que seguramente inicia la respuesta homeostática eritrocitaria, la cual es posteriormente modulada por el resto de los mecanismos que acabamos de enumerar. La causa patogénica más importante del fracaso medular, y del síndrome anémico por consiguiente, en el enfermo renal crónico, es la producción claramente disminuida de eritropoyetina (104). A veces, sin embargo, es evidente un componente hemolítico, con unos niveles de eritropoyetina circulante aumentados y con vigorosos esfuerzos de regeneración medular. La severidad de la anemia se correlaciona en general con el grado de la insuficiencia renal, aunque existen múltiples excepciones individuales a esta regla, por lo que no ha podido establecerse una relación definitiva de causa a efecto. La tasa de hemoglobina periférica suele comenzar a descender cuando la filtración glomerular se reduce al 25 ó 30 % de lo normal (104). La naturaleza del proceso patológico que destruye al parénquima renal no influye en el momento de aparición de la anemia. Los fenómenos hemorrágicos, frecuentes en la uremia crónica avanzada, marcan también su impronta en la expresividad clínica del síndrome anémico. La magnitud de la hemólisis tampoco parece depender del tipo de lesión renal, sino más bien del grado de insuficiencia funcional. El origen del síndrome hemolítico debe de cifrarse principalmente en anomalías extracorpúsculares, ya que los eritrocitos normales, transfundidos a estos enfermos, tienen una supervivencia disminuida, mientras que, por el contrario, sus hemáties tienen una vida media normal cuando se transfunden a sujetos sanos (104). A pesar de esto, numerosos estudios "in vitro" han conseguido demostrar diversas anomalías en los glóbulos rojos —en las actividades enzimáticas, el transporte iónico, la fragilidad osmótica corpuscular, etcétera— en la uremia crónica. Ninguna de éstas, sin embargo, parece de importancia decisiva a la hora de definir la anomalía específica de la que depende la anemia de la insuficiencia renal crónica, en la que la hipoproliferación medular es el factor que más claramente determina su severidad; esta hipoproliferación medular deriva principalmente de la ausencia de una estimulación

adecuada por la eritropoyetina plasmática, anormalmente disminuida, aunque también en parte de una falta de respuesta del tejido eritropoyético a su estímulo, quizás debido a la presencia de diversos factores circulantes inhibidores de dicha respuesta (104).

A pesar de estar presentes en la uremia crónica dos factores —la anemia y la hiperfosfatemia— que indudablemente deberían de incrementar de forma muy significativa los niveles eritrocitarios del 2,3-DPG, éstos, aunque elevados, no lo están en la cuantía que cabría esperar en relación con la tasa de hemoglobina periférica que es habitual en este proceso; para un mismo grado de anemia los enfermos renales crónicos muestran una concentración del glicerofosfato claramente inferior a la que es posible objetivar en los pacientes anémicos no urémicos (135, 158, 201, 252). La acidosis metabólica propia del fracaso renal debe de ser, con toda probabilidad, la causa responsable de este fenómeno (158). La caída en el pH plasmático, sin embargo, al desviar, gracias al efecto Bohr, la curva de saturación de la hemoglobina hacia la derecha, colabora con la elevación del 2,3-DPG eritrocitario en el mantenimiento de una mejor oxigenación de los tejidos; ello explicaría por qué los enfermos renales crónicos toleran relativamente bien importantes grados de anemia (135, 158).

En los últimos años, diversos estudios (148, 158, 174) han tratado de precisar si en los pacientes afectos de una uremia crónica e incluidos en un programa de depuración extrarrenal periódica se producen modificaciones en el contenido eritrocitario en 2,3-DPG después de cada sesión de hemodiálisis. El escaso número de trabajos publicados en la literatura, unido a la disparidad de sus resultados, nos impide por el momento llegar a conclusiones definitivas. La falta de un criterio uniforme a la hora de seleccionar a los enfermos, las diferencias en la duración de las sesiones de diálisis y, sobre todo, el distinto comportamiento a lo largo de estas últimas de factores tales como el pH plasmático, la fosfatemia, la hemoglobina o el hematocrito, nos pueden explicar la heterogeneidad de los hallazgos obtenidos por los diversos grupos de investigadores. La cuestión, sin embargo, no deja de tener una cierta importancia práctica, ya que sería de gran interés poder saber si en el enfermo anémico y urémico se modifica o no la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno como efecto colateral de cada sesión de hemodiálisis (148, 158, 174); si la respuesta a esta pregunta fuera afirmativa, ello nos obligaría a precisar cuál o cuáles son los factores responsables de la modificación, para así intentar corregirlos, siempre y cuando hubiéramos llegado previamente a la conclusión de lo nocivo de su influencia, en cuanto a la homeostasis del transporte de oxígeno, para el enfermo renal crónico incluido en un programa de depuración extrarrenal periódica.

V. El 2,3-DPG en las enfermedades tiroideas

La hiperproducción de hormonas tiroideas conduce a un incremento en el metabolismo celular, en el consumo periférico de oxígeno y en la termogénesis (87, 147, 205, 260). Los mecanis-

mos de adaptación del organismo a la nueva situación metabólica que esta circunstancia depara, tanto en el orden cardiocirculatorio como en el respiratorio, son conocidos desde hace años e incluyen fenómenos tales como la taquicardia, el aumento del volumen sistólico y del gasto cardíaco, la apertura de arteriolas periféricas y cutáneas —con la consiguiente disminución en las resistencias vasculares periféricas—, la taquipnea, etc. En definitiva, todos ellos son mecanismos orientados a mejorar la oferta de oxígeno a los tejidos (87, 147, 149, 240). Aunque ya en 1930 Bansi y Groscurth (20) comprobaron por primera vez, en 19 casos de enfermedad de Graves-Basedow y en varios sujetos sanos tratados con extractos tiroideos, como la curva de disociación de la hemoglobina se encontraba desplazada hacia la derecha, fue sólo en 1969 cuando Gahlenbeck y Bartels (87) intuyeron el verdadero significado fisiopatológico de este hallazgo. La menor afinidad del pigmento respiratorio por el oxígeno en situaciones de hipertiroidismo fue demostrada por estos últimos autores (87) al estudiar el valor del parámetro p50 "in vitro" en 17 enfermos basedowianos, así como en ocho hombres normales tratados con 100 $\mu\text{g}/\text{día}$ (y en nueve tratados con 150 $\mu\text{g}/\text{día}$) de L-3,5,3-triyodotironina (T_3). En todos ellos se comprobaba un aumento significativo de la p50 si se comparaba con el valor medio obtenido del análisis de 18 sujetos sanos. Resultados similares se objetivaban también experimentalmente al tratar 16 ratas con 20 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de peso/día de T_3 durante 10 días; la p50 se normalizaba 10 días después de haber suspendido el tratamiento hormonal. A la vista de estos hechos, Gahlenbeck y Bartels (87) sugirieron que la disminución en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, consecuencia del incremento en la p50, no sería sino otro mecanismo más de adaptación del enfermo hipertiroideo a las mayores necesidades periféricas del gas respiratorio, mecanismo que además no llevaría aparejadas las desventajas propias de los ajustes cardiorrespiratorios. A conclusiones similares llegaron con posterioridad otros autores (147, 149, 205, 222, 240). El presunto factor responsable del desplazamiento hacia la derecha de la curva de saturación de la hemoglobina en las situaciones de hiperfunción tiroidea, aunque intuido, era por entonces —año 1969— desconocido (87). En el mixedema dicho factor se pensaba que estaría, por el contrario, prácticamente ausente, como parecía lógico deducir de la demostrada mayor apetencia del pigmento respiratorio por el oxígeno en esta enfermedad (102). En 1970, Miller et al. (149) son los primeros en sugerir que el 2,3-DPG eritrocitario debía de ser el hasta entonces afanosamente buscado "agente" liberador del oxígeno de la hemoglobina en el hipertiroidismo. Aquellos autores (149), y posteriormente la casi generalidad de otros muchos (147, 152, 182, 185, 204, 205, 207, 233, 240, 242, 245, 248), con la excepción, que conozcamos, de sólo un grupo de trabajo (260), han llegado a la conclusión de que la concentración del fosfoglicerato se encuentra elevada en las situaciones de hiperfunción tiroidea, tanto espontáneas como provocadas de modo iatrógeno. En animales de experimentación —conejos, monos y ratas— también se ha puesto de manifiesto cómo la administración de hormonas tiroideas —tiroxina y triyodotironina—, tanto por vía parenteral como con la dieta, durante un tiempo y a unas dosis variables según los distintos autores, conduce a un incremento en la tasa del fosfo-

éster (126, 185, 203, 233), aunque para algunos (73) en una cuantía no excesivamente significativa. Los resultados obtenidos "in vitro" en incubaciones a 37° C de hematíes intactos o de preparaciones enzimáticas con triyodotironina o eventualmente con tiroxina son, sin embargo, menos uniformes (58, 147, 205, 207, 219, 220, 221, 222, 233, 234, 240). Según algunos trabajos (147, 219, 220, 221, 222) ambas hormonas tiroideas estimulan, incluso a pequeñas concentraciones, la síntesis del 2,3-DPG "in vitro", tanto en el eritrocito íntegro y aislado como en preparados libres de hemoglobina y enriquecidos con los sistemas enzimáticos generadores del fosfoderivado; parece que son precisas cantidades menores de T₃ que de T₄ para que se produzca el efecto deseado (204, 222), el cual, por otra parte, es ya detectable a los treinta minutos de iniciada la incubación (219). Otros estudios (58, 205, 207, 234), por el contrario, no han conseguido confirmar estos hallazgos, lo que ha sido atribuido en ocasiones (205, 207) a la aparición de una acidosis láctica en el seno del medio reactivo "in vitro".

Los mecanismos a través de los que la tiroxina o la triyodotironina pudieran afectar al metabolismo del 2,3-DPG no son conocidos en el momento actual (58, 149, 182, 248); la función en el ámbito fisiológico de este hipotético control es también objeto de controversia (182, 248). Cabe pensar al menos en tres posibilidades distintas en cuanto a la relación entre las hormonas tiroideas y el glicerofosfato: 1) un efecto indirecto como consecuencia de un aumento en el número de eritrocitos jóvenes circulantes, cuyo contenido en el fosfoderivado es superior, como es sabido, al de los normocitos maduros (182, 248); este mecanismo no parece muy probable, ya que en los hipertiroidismos inducidos farmacológicamente la máxima concentración del 2,3-DPG no coincide en el tiempo con la reticulocitosis, que además persiste cuando los niveles del fosfoéster se encuentran ya en franco descenso (185); 2) una acción, también indirecta, mediada bien a través del incremento en los requerimientos tisulares de oxígeno propios de la hiperfunción glandular o bien a través de un descenso en la tasa de hemoglobina periférica (152, 182, 185, 242, 248); estudios recientes parecen indicar que la anemia es poco frecuente como manifestación propia del hipertiroidismo y que, si aparece, es más bien como consecuencia de otras causas —pérdidas hemorrágicas, infecciones crónicas, etc.— asociadas a la enfermedad primitiva (104, 242); 3) un efecto directo sobre el metabolismo intraeritrocitario del 2,3-DPG (182, 185, 204, 205, 207, 219, 221, 242, 248). Es esta última posibilidad, quizás la más verosímil, la que va a ser comentada a continuación, a la luz de nuestros conocimientos actuales, de manera más extensa.

En contraposición a lo que sucede en las situaciones de anemia o de hipoxemia, en las que el estímulo primario para la síntesis del fosfoglicerato es probablemente la desaturación crónica de la hemoglobina, en la tirotoxicosis diversos trabajos (205, 207, 219, 221, 222) parecen haber demostrado una acción directa de las hormonas tiroideas sobre el contenido en 2,3-DPG de los hematíes. Para algunos autores (219, 221) esta acción directa sería inmediata sobre la DPGM, a la que estimularían en su actividad enzimática, con el consiguiente favorecimiento en la conversión del 1,3-DPG al 2,3-DPG; no parece probable que este efecto inmediato se deba a una inhibición

de la DPGP o a la liberación de un hipotético freno metabólico ejercido sobre la DPGM (221). Para otros investigadores (205, 207), por el contrario, la acción directa de la T_3 ó de la T_4 sobre el organofosfato estaría mediada por una modificación en el pH, tanto plasmático como intraglobular, que tendería hacia la alcalosis y, por lo tanto, a favorecer la síntesis del fosfoderivado.

Finalmente, y en oposición a lo dicho hasta ahora, en algunos trabajos (58, 234) se descarta la existencia de cualquier efecto estimulador directo "in vitro" de las hormonas tiroideas sobre la formación del 2,3-DPG o sobre la DPGM; a la vista de la marcada contradicción con los hallazgos de publicaciones previas, Czernik et al. (58) concluyen que son necesarios nuevos y más profundos estudios antes de que se pueda establecer de forma definitiva una relación directa, de causa a efecto, entre la tiroxina o la triyodotironina y el 2,3-DPG del hematíe.

La función que los fosfatos orgánicos eritrocitarios desempeñan en la homeostasis del transporte del oxígeno en las situaciones de hipofunción tiroidea no ha sido aún prácticamente investigada, pero parece todavía más compleja, si cabe, que la que hemos discutido a propósito de la tirotoxicosis. Algunos hallazgos (185) apoyan la hipótesis de que es la masa eritrocítica corporal total el factor que de manera más importante interviene en la regulación de los niveles del 2,3-DPG en el hematíe. Es un hecho conocido que la anemia asociada o propia del hipotiroidismo es de características normocrómicas y normocíticas y de grado leve o moderado, rara vez por debajo de los 9 g % en la tasa de hemoglobina periférica (104). Para explicar su patogenia se ha pensado en un cierto grado de hipoplasia medular, como un mecanismo más de adaptación del organismo, que ajusta la masa roja circulante a las menores necesidades de oxígeno en los tejidos; es típica su buena respuesta al tratamiento hormonal sustitutivo (104, 242). La anemia más frecuente en el hipotiroidismo es, sin embargo, la microcítica e hipocrómica secundaria a un déficit de hierro sobreañadido a la enfermedad de base; suele ser muy severa y la reacción medular a la terapéutica oportuna es correcta, hecho indicativo de que la deficiencia hormonal no es obstáculo para una adecuada producción de eritrocitos en la médula ósea (242). Menos habitual es la anemia macrocítica secundaria a una carencia en ácido fólico o en vitamina B_{12} (104). La eritrocitosis idiopática es excepcional como anomalía asociada a la hipofunción tiroidea (81).

En relación con lo que acabamos de exponer a propósito de la masa eritrocítica cabría distinguir, por lo que se refiere al papel homeostático del 2,3-DPG en el hipotiroidismo, dos órdenes de situaciones distintas: en primer lugar, aquellas en las que la anemia es la expresión de un fenómeno adaptativo a los menores requerimientos tisulares de oxígeno, por lo que en ellas no sería necesario un incremento compensador en los niveles del 2,3-DPG y, en segundo lugar, aquellas otras situaciones en las que el déficit de masa eritrocítica es patológico, con una disminución en la oferta del gas respiratorio a los tejidos y que, por lo tanto, precisarían de un aumento en la concentración del fosfoéster, al objeto de favorecer la liberación del oxígeno a nivel periférico (185). Hasta el momento actual no se han efectuado, que sepamos, estudios en este sentido. En el año 1978, Zaroulis et al. (260) han publicado un trabajo en el que refieren haber encontrado valores

normales de 2,3-DPG en nueve enfermos hipotiroideos no anémicos estudiados en catorce ocasiones distintas. En el año 1979, Sarkar et al. (203) no han comprobado modificaciones en la tasa del fosfoderivado en ratas a las que experimentalmente se convirtió en hipotiroideas.

VI. El 2,3-DPG en la cirrosis hepática

Desde que en 1884 Flückiger (85) describiera por primera vez, en una mujer de 37 años de edad sin patología cardiopulmonar alguna, la triada integrada por cianosis, acropaquias y cirrosis hepática, el interés por la fisiopatología respiratoria —y más concretamente por la curva de saturación de la hemoglobina— en las enfermedades hepáticas crónicas ha sido constante. La cianosis y las acropaquias constituyen, en ausencia de otra anomalía asociada, dos hallazgos clínicos poco comunes en el curso de las hepatopatías crónicas (2, 98, 141, 183, 198, 223); quizás son algo más frecuentes en la cirrosis biliar primitiva, en la cirrosis juvenil y en la hepatitis crónica agresiva (107, 140, 141). En cualquier caso, la patogenia de ambos signos —cianosis y acropaquias— en este grupo de enfermedades es desconocida en el momento actual (34, 223, 226). El aumento en el flujo sanguíneo periférico, expresión de la vasodilatación generalizada del enfermo cirrótico, y la hipoxemia son trastornos que se asocian habitualmente a dichos hallazgos clínicos (34, 107, 127, 216, 226, 227).

Numerosos mecanismos fisiopatológicos han tratado de dar explicación a la hipoxemia que aparece en algunas ocasiones en el curso de la cirrosis hepática. En 1935, y posteriormente en 1938, Keys y Snell (124) fueron los primeros en detectar un desplazamiento hacia la derecha en la curva de saturación de la hemoglobina; en 61 enfermos hepáticos crónicos observaron un cierto grado de insaturación arterial de oxígeno, en general poco marcado, y en 14 de ellos, en los que determinaron el valor de la p_{50} , comprobaron como éste era superior al de ocho controles normales. Keys y Snell (124) propusieron entonces para este hecho diversas explicaciones, tales como la probable existencia de determinadas alteraciones en el recambio gaseoso a nivel pulmonar —que en general no eran evidenciables en las necropsias— o como la presencia de "ciertas anomalías de la sangre en sí misma" y más concretamente "en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno". Aunque en años posteriores la supuesta desviación en la curva de saturación de la hemoglobina ha sido objeto de diversos estudios, no siempre concordantes (15, 19, 50, 62, 108, 117, 140, 141, 183, 223, 232, 233, 261), ha sido tan sólo hace poco tiempo cuando ha comenzado a valorarse el papel que el 2,3-DPG pudiera desempeñar, a este respecto, en la cirrosis hepática (115). Las escasas publicaciones que hacen referencia al tema coinciden en encontrar unos niveles elevados del glicofosfato en esta situación clínica (15, 19, 62, 115, 117, 175, 201, 233). Tres, al menos, podrían ser los factores responsables de tal elevación: la anemia, la hipoxemia y los trastor-

nos en el equilibrio ácido-base; aunque es posible que existan otros aún no conocidos (15, 99, 117, 233). Vamos a comentar brevemente, a continuación, los tres que hemos mencionado.

1. La anemia

A pesar de la diversidad de causas y mecanismos patogénicos que pueden conducir a una enfermedad crónica del hígado, parece ser que la anemia a ella asociada tiene en general unas características morfológicas y patofisiológicas similares; de esto se deduce que las alteraciones hematólogicas son secundarias no a la causa primitiva, sino más bien a su consecuencia final, la disfunción crónica del órgano (104). Por lo tanto, no resulta extraño que el grado de anemia y la severidad de la lesión hepática corran parejas.

Con la enfermedad crónica del hígado pueden coexistir diversos tipos de anemia, lo cual no quiere decir, realmente, que los procesos sean interdependientes y formen una sola unidad patológica, ya que ambos son de una alta incidencia entre la población general.

La anemia asociada o propia de la hepatopatía crónica es de grado moderado (2, 108, 127, 233), alrededor de los 10 g % de tasa de hemoglobina, y sólo severo cuando existen otros factores etiológicos, tales como la hemorragia, la deficiencia en folatos o en hierro, la hiperhemólisis, etcétera. Los hematíes son de morfología normocítica y más típicamente macrocítica. Su semejanza con la anemia megaloblástica o con la perniciosa hace pensar de modo inmediato en la posibilidad, al considerar superficialmente su presunta patogenia, de un defecto en el almacenamiento hepático del ácido fólico o de la vitamina B₁₂. Sin embargo, la similitud morfológica entre ambos tipos de anemias —la propia de la hepatopatía y las secundarias a las deficiencias vitamínicas— no resiste a un examen crítico. Además, la primera de ellas no responde a la administración de folatos ni de B₁₂, factores que, por otra parte, han sido detectados en el tejido hepático del enfermo cirrótico, aunque, si bien es cierto, en una cuantía inferior a la normal (104). Diversas hipótesis han postulado la existencia de determinadas alteraciones en la captación, el almacenamiento, la liberación o el transporte de cualquiera de los dos factores madurativos, en un intento de esclarecer así, al menos en parte, la patogenia de la anemia asociada a la enfermedad hepática crónica; esta anemia resulta un hallazgo tan constante que la simple presencia de unos niveles de hemoglobina superiores a los 16 g % debe de hacernos sospechar la existencia de un hepatoma implantado sobre la enfermedad primitiva (104).

La reducción en la tasa de hemoglobina circulante puede ser secundaria en el enfermo cirrótico a un aumento en el volumen plasmático total ("ascitis de la sangre") y no ser reflejo de un descenso real en la masa eritrocítica corporal; se trataría en este caso de una auténtica anemia por hemodilución (78, 104, 107, 108, 140, 141, 156). En efecto, algunos autores (78, 156) han comprobado cómo en la cirrosis hepática puede existir una hiperplasmemia, con volemia total a veces

también aumentada; esto suele ser particularmente más característico de aquellos casos en los que se asocian un franco estado hiperquinético con una marcada reducción en las resistencias vasculares periféricas, o una gran hipertensión portal con circulación colateral y varices esofágicas, o una notable hipoxemia con cianosis (78, 104, 107, 156).

La hemodilución juega un papel importante en la anemia del enfermo cirrótico, pero el factor dominante parece depender más bien de un descenso verdadero y significativo en la masa total de hematíes. La expansión de la médula roja, la proliferación normoblástica y la reticulocitosis periférica así parecen indicarlo, al proporcionar una cierta evidencia del esfuerzo medular eritropoyético (78, 104).

La existencia de un discreto grado de hemólisis también ha sido postulada en estos enfermos, al demostrarse en ellos un acortamiento en la vida media eritrocitaria (104, 140).

Cabe afirmar, pues, que la anemia asociada a la enfermedad hepática crónica es de etiología desconocida, refractaria a los tratamientos habituales, exagerada por la hiperplasmemia y caracterizada por una destrucción aumentada de hematíes y una respuesta medular no del todo adecuada. A todo esto debe de añadirse que en una cirrosis hepática es más bien excepcional el poder hablar de una situación estable en la que la anemia asociada no se vea complicada o influida por una o varias circunstancias sobreañadidas que la modulen o la modifiquen, como por ejemplo, las pérdidas hemorrágicas agudas o crónicas, la ferropenia o la sobrecarga de hierro, las deficiencias en factores de maduración —ácido fólico, vitamina B₁₂, piridoxina, etc.—, la malnutrición o la malabsorción intestinal, el alcoholismo, las infecciones crónicas, el hiperesplenismo, los trastornos en el metabolismo de los hidratos de carbono, la obstrucción biliar, la patología autoinmune o el fracaso renal (78, 104, 140). Por todo ello, la expresión final de una anemia en una cirrosis hepática es muy variable, ya que todos los factores enumerados se combinan de muy diversa forma al producirla.

La totalidad de los autores (15, 19, 62, 117, 201, 233) están de acuerdo al valorar la importancia de la anemia en la elevación que experimentan los niveles eritrocitarios de 2,3-DPG en los enfermos cirróticos; sin embargo, aunque tal anemia ha sido encontrada en casi todos los casos estudiados, sólo en algunos trabajos (15, 19) se ha conseguido establecer una correlación significativa entre la tasa de hemoglobina circulante y los niveles del fosfoderivado. A veces esta falta de correlación ha sido atribuida a las transfusiones de sangre que, con relativa frecuencia, reciben los enfermos, sobre todo cuando van a ser sometidos a una intervención quirúrgica derivativa por su hipertensión portal; estas transfusiones, por ser habitualmente de sangre conservada, suelen alterar, sobre todo en las primeras horas, la concentración eritrocítica del 2,3-DPG (62, 117, 175). Sin embargo, parece indudable que, en general, los niveles del fosfoéster que se encuentran en el curso de la cirrosis hepática son superiores a los que cabría esperar por el grado de anemia que es característico de la enfermedad (15, 201); es, por lo tanto, lógico pensar que algún otro factor,

además de dicha anemia, debe de influir en la respuesta compensadora del 2,3-DPG a la deficiencia en masa eritrocítica en esta situación clínica.

2. La hipoxemia

La hipoxemia es relativamente frecuente en la cirrosis hepática (2, 19, 62, 86, 98, 108, 117, 122, 127, 140, 141, 144, 175, 184, 218, 223, 226, 233, 253, 256, 261). La pO_2 se suele situar entre 60 y 80 mm Hg, rara vez por debajo de 50 mm Hg y sólo en un 20 % de los casos por encima de 80 mm Hg (2, 50, 98, 122, 175, 223, 226, 261). Sin embargo, la SaO_2 suele ser normal, superior generalmente al 90 % (2, 15, 34, 50, 60, 98, 108, 121, 122, 141, 144, 156, 184, 223, 256, 261). La insaturación de oxígeno de la sangre arterial, cuando aparece, se ha tratado de explicar bien por el ya mencionado desplazamiento hacia la derecha en la curva de saturación de la hemoglobina o bien por la misma hipoxemia. La primera de las dos posibilidades no solamente no ha sido comprobada, como ya comentábamos, por muchos autores, sino que, además, el grado de desplazamiento que, en ocasiones, puede observarse no suele ser de una magnitud suficiente como para explicar por sí mismo la insaturación arterial de oxígeno (15, 19, 50, 141, 184, 261).

Cuatro mecanismos patofisiológicos básicos han tratado de aclarar el origen de la hipoxemia de la cirrosis hepática: la hipoventilación alveolar, los trastornos en el cociente ventilación-perfusión, la alteración en la difusión alveolo-capilar y el efecto "shunt" (19, 107, 108, 140, 141, 184, 223, 256, 261).

a) La hipoventilación alveolar

Es conocido el hecho de que esta anomalía siempre se acompaña de una elevación en la pCO_2 alveolar y arterial. Numerosos estudios (50, 107, 108, 117, 121, 122, 127, 140, 144, 181, 183, 184, 218, 233, 253) han demostrado, sin embargo, que los enfermos cirróticos suelen tener una hiperventilación crónica, que conduce a una alcalosis respiratoria, sobre cuyo origen hablaremos más adelante. La hipoventilación alveolar es, por el contrario, muy rara en el curso de una cirrosis hepática, por lo que no debe de ser la causa, al menos habitualmente, de la hipoxemia que puede aparecer en ella; una pCO_2 elevada debe de alertar al clínico y hacerle sospechar la presencia de una depresión del centro respiratorio, quizás medicamentosa, por sedantes, que se metabolizan mal en el hígado enfermo (223, 256).

b) Los trastornos en el cociente ventilación-perfusión

El valor de este cociente es normalmente de 1.0, aunque teóricamente puede variar entre cero e infinito (223). El pequeño gradiente alveolo-arterial de pO_2 que se origina en el pulmón normal, como consecuencia de alteraciones en dicho cociente en las distintas zonas del órgano, es del orden de los 5 o 10 mm Hg. En la cirrosis hepática pueden encontrarse diversas variaciones en la función pulmonar regional —por ascitis, derrames pleurales, atelectasias basales, etc.—, que pueden dar origen, ocasionalmente, a hipoventilaciones locales con perfusión conservada y cuyo resultado a veces es una hipoxemia (2, 98, 107, 108, 144, 184, 223, 261). Aún en ausencia de ascitis se ha detectado una menor ventilación en las bases pulmonares mediante xenon-133; sin embargo, la hipoxemia aparece con independencia de la ascitis y tampoco mejora con la paracentesis (107, 108, 122).

Por todo ello, aunque de indudable importancia, los trastornos en la relación ventilación-perfusión no deben de ser la causa principal de la hipoxemia del cirrótico (2, 223, 256).

c) La alteración en la difusión alveolo-capilar

Este defecto, aunque ocasionalmente demostrado (183, 256), no parece que aisladamente intervenga, de modo decisivo, en el origen de la hipoxemia de la enfermedad hepática crónica (2, 34, 107, 108, 141, 223, 253).

d) El efecto "shunt"

El efecto "shunt", efecto de mezcla venosa o de admisión venosa, aparece como resultado de la presencia de cortocircuitos vasculares entre la circulación pulmonar y la circulación mayor; como consecuencia, la sangre no se pone totalmente en contacto con la superficie de intercambio respiratorio en el pulmón, y de ahí el consiguiente defecto en la oxigenación de la hemoglobina (223). En el sujeto sano existe un "shunt" fisiológico, pero su magnitud, pequeña, no alcanza el 5 % del gasto cardíaco (184, 223). En realidad, la mezcla venosa es una forma extrema de desequilibrio entre la ventilación y la perfusión pulmonares, en la que la relación entre ambos factores es igual a cero por serlo el primero de ellos (223). No cabe duda de la existencia de un aumento del efecto de admisión venosa en la cirrosis hepática (2, 34, 86, 98, 107, 108, 122, 140, 141, 144, 156, 157, 183, 184, 198, 223, 226, 227, 253, 256, 261), como lo demuestra la persistencia de grandes gradientes alveolo-arteriales después de respirar oxígeno al 100 % (2, 98, 107, 108, 144, 156, 184, 223, 256); su magnitud, aunque variable, se ha evaluado entre un 5 y un 25 %,

excepcionalmente un 40 % o más, del gasto cardíaco (2, 90, 98, 122, 141, 144, 183, 184, 198, 223, 226). Varias pueden ser las localizaciones de las comunicaciones o anastómosis causantes del efecto "shunt". Los cortocircuitos intrapulmonares, los más estudiados, son quizás también, desde un punto de vista cuantitativo, los más importantes (2, 34, 81, 107, 108, 141, 144, 156, 157, 184, 198, 223, 226, 256, 261); se han llegado a demostrar, incluso, auténticas arañas vasculares intraparenquimatosas o en la superficie pleural (34, 223).

La presencia de comunicaciones vasculares entre el sistema portal y la circulación mayor, entre esta última y la circulación pulmonar o entre el primero —el sistema portal— y las venas pulmonares, a través de los plexos venosos periesofágicos, mediastínicos, bronquiales, ácido-dependientes, etc., también ha podido ser puesta de manifiesto en diversos trabajos (86, 98, 107, 108, 141, 144, 157, 184, 223, 226, 227, 261); el porcentaje de mezcla venosa que depende de su funcionamiento es indudablemente menor que el que es consecuencia de las anastómosis vasculares intrapulmonares antes citadas, no sólo porque, desde un punto de vista numérico, las comunicaciones extrapulmonares son menos importantes, sino también, y fundamentalmente, porque la sangre portal tiene una pO_2 elevada (34, 141, 144, 157, 223, 256). En cualquier caso, ambos tipos de cortocircuitos —cuya demostración se ha efectuado tanto mediante estudios anatómicos "post-mortem" como por técnicas radiológicas o isotópicas (2, 34, 122, 141, 157, 183, 198, 256)— deben de reconocer una causa común: la apertura de un gran número de anastómosis arterio-venosas o de vasos colaterales y plexos venosos preformados, no anómalos, pero normalmente cerrados al flujo sanguíneo y que son probablemente activados y puestos en función por una hipotética sustancia vasodilatadora —histamina, bradiquinina, ferritina, estrógenos, etc.—, bien producida o bien no metabolizada por el hígado enfermo; en definitiva, no sería ésta sino la misma alteración circulatoria que conduce al conocido estado hiperquinético del enfermo cirrótico (34, 107, 127, 140, 156, 198, 226, 227, 253, 256).

En resumen, parece que muchos factores colaboran en la génesis de la hipoxemia propia de la enfermedad hepática crónica; el efecto "shunt" en primer lugar, y secundariamente los trastornos en el cociente ventilación-perfusión, son con toda certeza los más importantes al respecto (2, 34, 86, 98, 108, 157, 183, 184, 223, 253).

La hipoxemia no ha sido evaluada como índice pronóstico en la historia natural de la cirrosis hepática, pero parece que puede tener cierta importancia en el desarrollo de la encefalopatía portal, por lo que su tratamiento, por lo demás sencillo, es aconsejable en todos los casos (175, 223, 261).

La relación entre la hipoxemia y el 2,3-DPG eritrocitario en las hepatopatías crónicas ha sido objeto de escasos estudios (15, 117, 175, 233); en algunos de ellos (15) se ha intentado establecer una correlación lineal entre ambos parámetros. De tales estudios parece desprenderse que la hipoxemia es un factor menos importante que la anemia o la alcalosis a la hora de modificar la concentración eritrocitaria del 2,3-DPG en la cirrosis hepática.

3. Los trastornos en el equilibrio ácido-base

La alcalosis respiratoria es la perturbación del equilibrio ácido-base más frecuente en los enfermos cirróticos, sobre todo en aquellos casos en los que coexiste una situación de coma hepático o de encefalopatía portal (15, 50, 51, 108, 117, 121, 122, 124, 140, 155, 181, 183, 184, 218, 223, 233, 240). La etiología de la hiperventilación crónica —causa de la alcalosis— no ha sido aún establecida, aunque ha sido muy investigada (107, 108, 122, 127, 155, 181, 183, 184, 218, 223, 246, 256). La hipoxemia podría ser el estímulo primario del centro respiratorio; sin embargo, su escasa magnitud y lo inhabitual de una desaturación arterial de oxígeno asociada hacen que esta hipótesis sea poco probable (107, 108, 122, 140, 141, 155, 218). Se han buscado otras causas, a veces no fisiológicas, para explicar la hiperventilación crónica del enfermo cirrótico. Se ha pensado en un trastorno del centro respiratorio que origine una intolerancia o una hipersensibilidad patológicas al CO_2 (122, 141). Se ha valorado también la posibilidad de una estimulación directa del centro respiratorio por concentraciones anormalmente altas de amoníaco, o más probablemente aún, del ion amonio, más difusible a través del sistema nervioso central y por lo tanto más tóxico, y cuya formación estaría favorecida por la alcalosis existente (107, 108, 122, 155, 218, 238, 246); sin embargo, la correlación entre los niveles sanguíneos del amoníaco y la ventilación pulmonar es muy pobre (108). Se ha sugerido finalmente que otras sustancias, como las aminas o la progesterona, podrían ser las responsables, al no ser metabolizadas por el hígado enfermo, de la hiperventilación crónica del enfermo cirrótico (108, 122).

Además de la alcalosis respiratoria, otras situaciones ácido-base pueden aparecer en el curso de una cirrosis hepática, sobre todo en sus fases terminales o en los casos de encefalopatía portal (97, 109, 128, 155, 181, 246). En general, puede afirmarse que existe una progresión desde la alcalosis respiratoria inicial hasta la acidosis metabólica final, habitualmente con las características de la acidosis láctica en los estadios últimos del coma hepático (97, 109, 128, 155, 181, 246).

Esta eventualidad no es nada extraña a la vista del papel central del hígado en el metabolismo del lactato; tampoco sorprende, por lo tanto, el mal pronóstico de la hiperlactacidemia en las situaciones de insuficiencia hepática, tanto aguda como crónica (97, 109, 128, 155). Sin embargo, la gran reserva funcional del órgano consigue que los niveles sanguíneos del lactato permanezcan dentro de límites normales mientras la hepatopatía se mantenga en una situación de compensación clínico-metabólica (128).

Finalmente, la alcalosis metabólica, aunque menos habitual, también es posible como anomalía ácido-base; su origen puede deberse a una hipopotasemia, una aspiración gástrica continua, unos vómitos de repetición, etc. (155, 181).

En conclusión, el balance ácido-base en la cirrosis hepática es un proceso con características dinámicas en el que la progresión de la alcalosis respiratoria —la alteración más frecuente, aun-

que no patognomónica— hacia otras situaciones con valores distintos del pH se efectúa rápidamente y con independencia del estado de consciencia del enfermo (155, 238).

La relación entre el 2,3-DPG eritrocitario y los trastornos del equilibrio ácido-base en las hepatopatías crónicas es algo más clara que la que comentábamos a propósito de la hipoxemia, aunque también aquí los trabajos sobre el tema son escasos (15, 117, 175, 233). En ésta, como en otras situaciones clínicas, parece que existe una estrecha correlación entre el pH plasmático y los niveles del 2,3-DPG o los valores de la p50 (15, 233). Los estados de encefalopatía portal coinciden con las concentraciones más altas del organofosfato, quizás por ser en ellos donde la alcalosis respiratoria es más intensa (15); por el contrario, tales concentraciones son anormalmente bajas en aquellos casos en los que aparece una acidosis metabólica como complicación evolutiva de la enfermedad (175).

De lo hasta aquí comentado se desprende que tanto la anemia, como la hipoxemia o el pH plasmático, y quizás también otros factores como la fosfatemia, pueden intervenir de modo decisivo en la regulación del contenido en 2,3-DPG de los hematíes en la cirrosis hepática. Su importancia relativa y su interdependencia son uno de los objetivos de nuestro trabajo.

VII. El 2,3-DPG y la sangre conservada

El fin esencial de la transfusión sanguínea es el de restaurar las posibilidades de oxigenación de los tejidos; para ello es imprescindible no solamente reconstituir la concentración de hemoglobina periférica, sino también conseguir que los hematíes transfundidos mantengan una adecuada función circulatoria y una intacta capacidad para desprenderse del oxígeno al llegar a los capilares tisulares (104, 186, 240).

La administración de sangre al hombre se ha intentado de modo constante durante muchos años, si bien siempre estuvo condenada al fracaso hasta el reconocimiento de los grupos sanguíneos a principios de este siglo (104). Hasta la Primera Guerra Mundial los procedimientos para la transfusión de sangre se basaban en su extracción y utilización inmediata. Las grandes dificultades que esto llevaba consigo se creyó durante algún tiempo que podían solucionarse simplemente con el empleo de sangre conservada. La posterior comprobación del progresivo deterioro metabólico que ésta experimenta durante su almacenamiento ha llevado, en los últimos cincuenta años, al estudio y ensayo de numerosos medios para preservarla, tanto mediante el uso de sustancias líquidas como con la aplicación de diversas técnicas de congelación (241).

Sangre fresca es aquella que se conserva a temperatura ambiente durante intervalos de tiempo no superiores a las cuatro horas; su almacenamiento por períodos más prolongados conduce a un detrimento en la función de los hematíes, en su supervivencia y en la de los leucocitos, las plaquetas y los diversos factores plasmáticos de naturaleza proteica (241). El deterioro de los eritrocitos

durante su conservación se manifiesta por su rápida eliminación del torrente circulatorio del receptor cuando son transfundidos. Junto a estos elementos corpusculares irreversiblemente dañados y que no son por tanto viables existen otros que, por el contrario, pueden ser reparados después de la transfusión y tienen entonces una capacidad normal de supervivencia. Se admite que los hematíes inviables son destruidos en el receptor en las primeras 24 horas, por lo que, una vez transcurridas éstas, el índice de supervivencia es una buena medida de la proporción de eritrocitos viables (240, 241). Se considera que el 70 % es el índice de supervivencia postransfusión mínimo para que una sangre conservada pueda catalogarse como útil (49, 104, 186).

Durante su almacenamiento aparecen en el hematíe una serie de anomalías bioquímicas —disminución en el flujo glicolítico general, elevación en la concentración de los fosfatos inorgánicos, variaciones en el gradiente transmembrana de los cationes monovalentes, descenso en los niveles de los fosfatos orgánicos, etc.— que son más marcadas cuanto más prolongado es el tiempo de conservación. Entre todas estas alteraciones merece una mención especial aquella que es posible observar en la función del transporte del oxígeno por los eritrocitos. Valtis y Kennedy, en 1954, fueron los primeros en describir el progresivo incremento en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno que aparecía durante la conservación de la sangre a 4° C, hecho que ha sido ratificado posteriormente por otros muchos autores (25, 33, 35, 45, 134, 163, 240, 241); durante este período de tiempo los niveles de 2,3-DPG caen de forma sustancial, mientras que los de ATP sólo lo hacen en grado mínimo (52). Una vez transfundidos estos eritrocitos de alta afinidad por el oxígeno, la posición de la curva de disociación de la hemoglobina de la sangre mezclada vuelve a la normalidad a las 24 o 48 horas, coincidiendo con la recuperación de la concentración de los fosfatos orgánicos del hematíe; la tasa y la velocidad de restauración "in vivo" de los niveles del 2,3-DPG dependen tanto de la calidad y cantidad de las células transfundidas como de las particulares circunstancias del receptor —estado ácido-base, grado de anemia, contenido del plasma en fosfatos inorgánicos, etc.— (25, 33, 45, 104, 134, 163, 240, 241, 243).

El estado funcional de los hematíes conservados puede ser de gran importancia en determinadas situaciones clínicas a la hora de la transfusión, sobre todo si esta última se lleva a cabo con características masivas en cuanto al volumen de sangre administrado. Enfermos afectados de una insuficiencia ventilatoria, de un shock hemorrágico o séptico, de un fallo miocárdico con bajo gasto cardíaco o sometidos a intervenciones con circulación extracorpórea pueden no ser capaces de compensar el descenso en la oxigenación de los tejidos que normalmente ocurre durante las primeras cuatro a ocho horas postransfusión de eritrocitos con bajos niveles de 2,3-DPG (35, 57, 240, 241, 257). En estos casos estaría indicado el proporcionar una sangre con una tasa elevada del organofosfato (165, 200, 208, 228, 240, 243, 259); diversos procedimientos se han ensayado en este sentido, como discutiremos más adelante.

El mantenimiento de la función transportadora de oxígeno de los hematíes conservados es, como se deduce de lo que hasta aquí hemos comentado, independiente de su propiedad de libe-

rarlo adecuadamente, liberación que, en última instancia, depende del 2,3-DPG; la supervivencia postransfusional, por otra parte, esta influida primariamente por la tasa de ATP eritrocitario (35, 49, 104, 200, 240, 241).

El primer líquido anticoagulante utilizado para el almacenamiento de la sangre fue introducido durante la Primera Guerra Mundial y consistía en una solución de citrato y glucosa (241). Posteriormente, en 1943, Loutit y Mollison comprobaron cómo la adición de ácido cítrico a la solución anterior mejoraba claramente sus propiedades conservadoras. Con este nuevo líquido estabilizador —ACD: ácido cítrico al 0.8 ‰, citrato sódico al 2.2 ‰ y dextrosa al 2.45 ‰— los hematíes almacenados a +4° C durante 21 días mantienen, 24 horas después de la transfusión, una supervivencia de, por lo menos, un 70 ‰; sin embargo, con este medio anticoagulante el 2,3-DPG y la p50 caen rápidamente a partir del segundo día de conservación, de tal forma que a la semana sólo es posible detectar entre un 10 y un 30 ‰ de los valores iniciales (49, 52, 99, 104, 134, 151, 163, 186, 240, 241, 250, 257); la mayor parte del fosfato se convierte en inorgánico (104).

La importancia del 2,3-DPG para preservar la función "respiratoria" normal de la sangre ha llevado a la búsqueda de nuevas soluciones estabilizadoras. En 1956 aparece un nuevo medio enriquecido en fosfato: el CPD (ácido cítrico al 0.327 ‰, citrato sódico al 2.63 ‰, fosfato sódico monobásico al 0.222 ‰ y dextrosa al 2.55 ‰). Tres ventajas, al menos, se postulan para este nuevo anticoagulante: 1) su pH es más elevado, por lo que la sangre que se proporciona al receptor es más "fisiológica"; 2) su concentración en citratos es un 20 ‰ menor, lo que consigue que la caída postransfusional del calcio iónico plasmático sea también menor; 3) su posibilidad de almacenamiento se prolonga al menos en una semana.

En efecto, el medio CPD parece más adecuado que el ACD para la conservación de la sangre a +4° C, ya que mantiene los niveles de 2,3-DPG períodos de tiempo más prolongados; los hematíes muestran una buena función transportadora de oxígeno incluso hasta el décimo día de preservación y su contenido en el fosfoderivado no comienza a disminuir hasta el quinto día (32, 57, 96, 99, 134, 151, 163, 186, 187, 189, 240, 241, 257). El CPD tiene, sin embargo, el inconveniente de que con él se administran grandes cantidades de fosfato inorgánico al receptor, circunstancia que puede ser perjudicial en algunos casos de insuficiencia renal crónica (49).

En un intento de reconstituir o regenerar, "in vivo" o "in vitro", los niveles del 2,3-DPG y de mejorar con ello las propiedades "respiratorias" de la sangre conservada se han ensayado, en los últimos años, multitud de compuestos —piruvato, fosfato inorgánico, dihidroxiacetona-fosfato, ácido ascórbico, azul de metileno, nucleósidos de purina (inosina y adenosina), metilprednisolona, prostaglandina E₂, bicarbonato—, tanto de forma aislada como conjuntamente, así como, también, con el mismo objetivo, se han probado diversos procedimientos técnicos —adición simple al medio anticoagulante, infusión intravenosa, incubación pretransfusión, agitación periódica de las bolsas de plástico durante la preservación, etc.— (35, 36, 40, 61, 104, 134, 135, 164, 165, 187, 228, 234, 241, 242, 257).

El nucleósido inosina, por ejemplo, ejerce su efecto sobre el metabolismo del hematíe después de penetrar a través de su membrana y de convertirse, por la acción de la nucleósido-fosforilasa, en hipoxantina y en ribosa-1-fosfato. Este último compuesto se transforma, gracias a la fosforibomutasa, en ribosa-5-fosfato, que finalmente se incorpora al "shunt" de las pentosas para proporcionar así sustratos fosforilados —sin necesidad de que intervengan la HK o la PFK— a la vía de Embden-Meyerhoff (40).

La adición de fósforo inorgánico potencia el efecto de la inosina, lo que, en definitiva, traduce la carencia del fosfato en el paso catalizado por la GAPD. Los resultados son aún más llamativos después de añadir piruvato, el cual, aparentemente, genera con facilidad NAD al invertir la reacción mediada por la LDH; el NAD es, por supuesto, necesario para la GAPD (Cuadro II) (26, 164, 228). La hipoxantina es catabolizada hacia xantina y ácido úrico, por lo que existe la posibilidad de que aparezca una hiperuricemia, notablemente perjudicial para el enfermo receptor de la transfusión (42, 186, 228, 240, 241).

La agitación periódica de las bolsas de plástico en las que, en ocasiones, se almacena la sangre en nevera a +4° C consigue preservar, durante lapsos de tiempo más prolongados, los niveles eritrocitarios de 2,3-DPG, sobre todo si se utilizan soluciones estabilizadoras enriquecidas con bicarbonato. Esto es debido a que en las bolsas que no sufren tal agitación y mezcla regulares los hematíes sedimentan en el fondo, por lo cual carecen de un ambiente en contacto adecuado con el líquido anticoagulante, que queda en suspensión en la zona superior de la bolsa; el plástico, además, es permeable al CO₂ y por ello el pH del medio es menos ácido. El bicarbonato neutraliza las valencias ácidas procedentes del metabolismo globular de la glucosa, debido a la liberación del difusible anhídrido carbónico (36, 257).

Para mejorar la supervivencia postransfusional de las células rojas, tanto si lo administrado es sangre total como si son hematíes concentrados, se han utilizado dos tipos de procedimientos: a) los métodos de congelación a bajas temperaturas, que permiten prolongar el tiempo de preservación durante meses, e incluso años, sin evidencia de deterioro metabólico alguno. A ellos nos referiremos en breve; b) los métodos de anticoagulación habituales —ACD o CPD—, pero suplementados con sustancias estabilizadoras de la concentración del ATP, ya que la viabilidad eritrocitaria decrece rápidamente cuando su tasa cae por debajo del 50 % del valor inicial. El ATP es consumido por los hematíes para mantener sus funciones vitales: bomba de sodio, estructura de la membrana, potencial reductor, etc. La supervivencia de los glóbulos rojos postransfusión depende del metabolismo de la glucosa durante el período de almacenamiento. Aunque a +4° C su utilización está muy disminuida, es suficiente como para que su degradación se haya completado a lo largo de la primera semana de conservación; de ahí la gran ventaja de los medios enriquecidos con glucosa en contraposición a la simple anticoagulación con heparina. De forma similar, parece que el pH de 7.1 es el óptimo para la preservación de la sangre y más adecuado a este respecto que otros pH más alcalinos. Con este valor de 7.1 se cataboliza sólo un 50 % de la glucosa que

normalmente utiliza el hematíe a un pH de 7.5; sin embargo, esto es suficiente como para mantener unos niveles apropiados de ATP. Entre las sustancias más empleadas para preservar las tasas de ATP se encuentra la adenina; con ella se suplementan los medios clásicos, ACD y CPD, en un intento de prolongar, incluso hasta cuarenta días, el tiempo de almacenamiento de la sangre en nevera a +4° C (35, 49, 96, 104, 134, 186, 187, 241, 250). La adenina tiene el inconveniente de que uno de sus catabolitos, la 2,8-dioxiadenina, es sumamente nefrotóxico, por lo que se aconseja que la concentración de la purina en el medio anticoagulante no sea superior a 0.25 mM; además es recomendable lavar los hematíes antes de la transfusión, precaución que también colabora para evitar la hiperuricemia que antes indicábamos (186, 240, 241).

La introducción en los últimos años de las técnicas de congelación para el almacenamiento de la sangre por largos períodos de tiempo ha abierto una nueva dimensión en el campo de la transfusión sanguínea. Es pronto para asegurar la superioridad "fisiológica" de esta sangre frente a la conservada en los medios líquidos clásicos, si bien es evidente que en ella los niveles de 2,3-DPG y de ATP, por lo menos, se mantienen mejor y más próximos a los de la sangre fresca (240, 241). Como sustancia crioprotectora se utiliza generalmente el glicerol —al 40 % con una técnica de congelación a -80° C o al 20 % si la temperatura se fija en -150° C—, que previene la formación de cristales que podrían dañar al hematíe; pero tiene el inconveniente de su elevado coste (104, 240, 241).

En el momento actual se han desarrollado una serie de procedimientos para "rejuvenecer" una sangre cuando, conservada a +4° C en ACD o en CPD, comienza a deteriorarse de forma definitiva, entre los 21 y 30 días de almacenamiento en nevera. La adición entonces de una solución que contenga piruvato, inosina, glucosa, fosfato inorgánico y adenina, a diferentes concentraciones y a un pH ajustado a 7.2 (solución PIGPA), a cualquiera de los dos líquidos anticoagulantes consigue aumentar el 2,3-DPG y el ATP casi hasta un 80 % de los niveles iniciales. Si se añade la solución PIGPA entre el tercero y quinto día de conservación en CPD, la tasa de 2,3-DPG puede alcanzar hasta dos veces el valor normal inicial. Una vez "rejuvenecida" la sangre puede preservarse por las técnicas de congelación ya comentadas; cuando vaya a transfundirse, tanto el glicerol como los distintos aditivos, deben de ser extraídos después de la descongelación (104, 240, 241).

El aprovechamiento de sangres pasadas de fecha por estos procedimientos es justificable porque permite recuperar hematíes de grupos poco frecuentes, que si no, serían desechados. Además, este tipo de líquidos "rejuvenecedores" facilita la transfusión de eritrocitos con baja afinidad por el oxígeno, transfusión que puede ser de gran utilidad clínica en aquellos enfermos que precisen de una gran oferta tisular de O₂ (240); se consigue con ello que la p50, tanto "in vivo" como "in vitro", y el 2,3-DPG no solamente aumenten, sino, también, que permanezcan con valores altos, después de la transfusión, por lo menos durante 72 horas. Su evolución posterior dependerá de la situación metabólica del enfermo (240). Es evidente, por lo tanto, que las células rojas

“rejuvenecidas” incrementarán la masa eritrocítica corporal total, pero, además, mejorarán las condiciones del transporte globular del oxígeno.

El descubrimiento de la función “respiratoria” del 2,3-DPG ha abierto una nueva dimensión en el problema de la conservación de la sangre. La aparición de nuevas sustancias preservadoras y de mejores técnicas de almacenamiento ha puesto de manifiesto la posibilidad de modificar la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno por medios farmacológicos (35, 42, 165, 241). Los hipotéticos beneficios clínico-terapéuticos, que estos recientes procedimientos de la Hemoterapia moderna puedan ocasionar en determinadas situaciones patológicas, precisan de nuevos y más amplios estudios.

VIII. El 2,3-DPG en otras situaciones

En las situaciones de shock se ha demostrado también la existencia de una estrecha correlación entre el pH plasmático y el 2,3-DPG eritrocitario. Salvo en la forma etiopatogénica de shock séptico, en la que inicialmente puede aparecer una alcalosis respiratoria por hiperventilación, en el resto de las formas de shock lo habitual es encontrar, sobre todo en los estadios finales, una situación de acidosis láctica. La caída en el pH suele favorecer transitoriamente, gracias al efecto Bohr, la oxigenación de los tejidos, pero a la larga origina un descenso en el 2,3-DPG y, por lo tanto, en la p50 (83).

En el estado de shock endotoxémico la alteración en la función respiratoria de la hemoglobina es aún, verosíblemente, más pronunciada. García Barreno (89, 91, 93), en 154 enfermos diagnosticados de sepsis y shock, ha encontrado unos niveles medios de 2,3-DPG de 3.31 ± 0.44 mM, que son significativamente menores ($p < 0.001$) que los hallados en sus 44 controles normales. El supuesto mecanismo a través del cual se produce este descenso en el fosfoglicerato parece ser doble: por un lado, el ya comentado efecto del pH ácido, y por otro, la acción de la endotoxina circulante. La interacción de esta última con la membrana citoplasmática del hematíe es causa de su desestructuración y de una afectación en el sistema transportador de glucosa; la caída en la concentración intracorpúscular del azúcar —sustrato primario de la glicolisis eritrocitaria— sería el origen del descenso en la tasa del organofosfato, descenso que acentuaría aún más la hipoxia celular propia de esta situación clínica (89, 91, 93, 142).

En el curso de intervenciones quirúrgicas de corazón con circulación extracorpórea se ha detectado un aumento en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, que se ha atribuido a los bajos niveles de 2,3-DPG de la sangre transfundida (224, 240).

En la adaptación al “stress” del ejercicio prolongado e intenso algunos autores (75, 104) han objetivado una elevación en el contenido en 2,3-DPG de los hematíes, la cual guardaba estrecha relación con el grado de ejercicio; la finalidad sería el logro de una mejor oferta de oxígeno al lecho muscular (75).

No se han encontrado diferencias en la tasa de 2,3-DPG entre los sujetos fumadores y los no fumadores; el desplazamiento hacia la izquierda en la curva de saturación de la hemoglobina, que se ha demostrado en algunos casos, se debe a la presencia de una alta proporción de HbCO, cuyo mecanismo de compensación se lograría más bien mediante un aumento en la masa eritrocítica y menos mediante un incremento en la tasa del fosfoderivado (105, 152, 199).

Parece ser que el 2,3-DPG aumenta aproximadamente un 20 % durante el tercer trimestre del embarazo humano normal; una de las explicaciones para este fenómeno pudiera ser la anemia por hemodilución característica de esta circunstancia (99, 242).

En situaciones tales como el síndrome del "distress" respiratorio del recién nacido, la policitemia experimental y la hiperoxia hiperbárica, los hallazgos en cuanto a los niveles del fosfoglicerato son muy contradictorios (99, 111, 201, 208, 258).

Finalmente, también se ha estudiado el efecto de algunas sustancias químicas y de algunos agentes farmacológicos, desde el punto de vista de su influencia sobre la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y sobre los niveles de 2,3-DPG, con evidentes propósitos terapéuticos. Ejemplos en este sentido son: compuestos sulfurados inorgánicos como los tetratonatos, tiosulfatos, bisulfitos, ditionitos, etc.; propanolol y otras drogas β -bloqueantes adrenérgicas; dipiridamol y demás coronariodilatadores; fenformina; etc. (73, 99, 104, 119, 201, 242).

MATERIAL Y METODOS

- A. Enfermos estudiados**
- B. Protocolo de recogida de datos**
- C. Métodos empleados**
- D. Material utilizado.**
- E. Cálculo estadístico**

A. ENFERMOS ESTUDIADOS

Hemos estudiado un total de 379 personas, 155 hombres y 224 mujeres, en 435 ocasiones diferentes. En aquellos casos en los que el estudio fue realizado en más de una ocasión, el intervalo de tiempo transcurrido entre las determinaciones analíticas ha sido siempre superior, al menos, a una semana y generalmente a varios meses.

La distribución por grupos de enfermedades de estos 259 casos es la siguiente:

I. Controles normales	120 personas
II. Anemias de diverso origen	40 enfermos
III. Enfermedades tiroideas	76 enfermos
IV. Cirrosis hepáticas	60 enfermos
V. Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas	44 enfermos
VI. Insuficiencias renales crónicas	39 enfermos

Todos los casos, salvo un grupo de 20 enfermos renales crónicos, proceden de la Cátedra de Patología y Clínica Médica II (Profesor Dr. D. Espinós Pérez) del Hospital Clínico de San Carlos de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. En general, los estudios han sido efectuados en enfermos ingresados en el Hospital, aunque algunos casos, los menos, nos han sido remitidos desde las consultas de la Policlínica.

Las características clínicas de los enfermos de los diferentes grupos incluidos en este trabajo se analizan a continuación.

I. Controles normales (Grupo N)

Se han recogido un total de 120 sujetos, de edades comprendidas entre 1 y 76 años (media \pm SD: 28.0 \pm 15.6 años), 60 hombres (grupo N1) y 60 mujeres (grupo N2), aparentemente sanos, habitantes de Madrid, que nos han servido de controles normales para su comparación posterior con los distintos grupos de enfermos. La mayoría de estos controles sanos han sido elegidos entre el personal sanitario del Hospital o entre los alumnos de los tres últimos cursos de la Facultad de Medicina. Algunos casos, sin embargo, eran familiares del personal del Centro. Para la inclusión en este grupo de controles normales se ha exigido únicamente, además de la impresión

subjetiva de total salud, que la tasa de hemoglobina y el índice hematocrito fueran superiores a 11.5 g % y 35 % respectivamente y en las mujeres, también, la no existencia de embarazo en el momento del estudio. No se ha distinguido entre fumadores y no fumadores.

II. Anemias de diverso origen (Grupo A)

Este grupo está formado por 40 enfermos, 9 hombres y 31 mujeres, con edades que han oscilado entre 1 y 83 años (media \pm SD: 37.3 \pm 20.7 años) y que en su mayor parte han sido diagnosticados en el Servicio de Hematología de la Cátedra. La etiología del síndrome anémico, aunque variada, en su inmensa mayoría corresponde a un déficit de hierro, si bien se incluyen algunos casos de anemia aplásica, síndrome hemolítico crónico (excluidas hemoglobinopatías y talasemias) y anemias secundarias. Obviamente, se han eliminado de este grupo todas aquellas anemias que acompañaban a alguna de las enfermedades que son objeto de análisis particular en este trabajo (cirrosis hepática, insuficiencia renal crónica, hipotiroidismo, etc.) y con las que, de alguna manera, se van a establecer diversas comparaciones en cuanto a su respuesta adaptativa al déficit de masa eritrocítica. No se ha recogido ningún caso en el que la anemia fuera debida a una hemorragia aguda o que hubiera sido transfundido en la semana previa al estudio. Es decir, se han tratado de incluir en este grupo síndromes anémicos de instauración crónica, sin importarnos que estuvieran en tratamiento médico (generalmente con hierro), pero soslayando situaciones de anemia aguda o que pudieran inducirnos a error (transfusiones, hemoglobinopatías, anemias de etiología no aclarada, etc.) al compararlos con el resto de nuestros posteriores estudios en otros grupos de enfermos. En ninguno de los 40 casos de anemia analizados se han realizado determinaciones repetidas en el mismo enfermo. Es decir, todos ellos son casos diferentes. A este grupo lo hemos denominado "anemia simple" (grupo A).

III. Enfermedades tiroideas

Se compone este grupo de un conjunto de 76 casos, estudiados en 100 ocasiones distintas y en los cuales se han dado las tres posibilidades funcionales de la glándula tiroidea: hiper-normo e hipofunción. Su reparto cuantitativo es el siguiente:

1. Hipertiroidismos (grupo H) 25 casos, estudiados en 35 ocasiones
2. Eutiroidismos (grupo E) 38 casos, estudiados en 52 ocasiones
3. Hipotiroidismos (grupo T) 13 casos.

1. Hipertiroidismos (Grupo H)

El diagnóstico de hiperfunción tiroidea ha estado basado tanto en las manifestaciones clínicas, evidentes en la gran mayoría de los casos, como en las determinaciones hormonales. En algunas circunstancias dudosas ha sido necesario recurrir a los "tests" de estimulación de TSH hipofisaria con TRH, que nos han ayudado a confirmar la sospecha clínica. La edad de estos 25 enfermos hipertiroides, dos hombres y 23 mujeres, ha variado entre los 18 y los 67 años (media \pm SD: 47.9 ± 13.9 años). En 19 casos el hipertiroidismo tenía su origen en un bocio difuso, mientras que en los 6 restantes se debía a bocios multinodulares o adenomas tóxicos. Como ya hemos referido, estos 25 casos han sido estudiados en 35 ocasiones distintas, de tal forma que en aquellos enfermos en los que las determinaciones analíticas han sido repetidas en el curso del tiempo, siempre con intervalo de meses entre ellas, la primera vez ha correspondido al momento del diagnóstico, con el enfermo virgen de todo tratamiento, y las posteriores a ocasiones distintas en el curso evolutivo de la enfermedad, con el enfermo ya tratado, pero todavía en situación clara de hiperfunción tiroidea.

Hemos tenido oportunidad, además, de seguir la evolución y normalización, tanto clínica como analítica, de 15 casos, al objeto de poder precisar las diversas modificaciones inducidas por el tratamiento, que por otra parte, la mayoría de las veces ha sido solamente médico, con las drogas antitiroideas habituales, pero que en algunos fue quirúrgico. De esta forma, se han podido comparar las variaciones experimentadas en los parámetros bioquímicos por nosotros estudiados cuando la terapéutica había conseguido que el hipertiroidismo abocase a la situación de normalidad funcional de la glándula. Para esto último han sido necesarios períodos de tiempo generalmente de meses.

2. Eutiroidismos (Grupo E)

Se han incluido en este grupo 38 enfermos, 6 hombres y 32 mujeres, estudiados 52 veces distintas y de edades comprendidas entre los 18 y los 81 años (media \pm SD: 49.3 ± 13.8 años). En todos ellos, lógicamente, la normalidad funcional glandular se ha demostrado con el estudio hormonal. Se han excluido de este grupo aquellos casos en los que, a pesar de cumplirse el requisito anterior, era evidente la existencia de otras enfermedades concomitantes, que podían alterar, "per se", los parámetros bioquímicos estudiados por nosotros y, por ello, modificar nuestros resultados. Nos referimos aquí concretamente a situaciones de insuficiencia cardíaca, renal o respiratoria, que han sido sistemáticamente evitadas. Sin embargo, no hemos descartado aquellos enfermos en los que estaba presente un síndrome anémico, aunque éste, lógicamente, ha sido tenido luego en cuenta, a la hora de analizar los resultados.

3. Hipotiroidismos (Grupo T)

Este grupo está integrado por 13 pacientes, todos ellos mujeres, cuyas edades han oscilado entre los 30 y los 74 años (media \pm SD: 55.3 \pm 14.9 años). El diagnóstico, sugerido clínicamente, ha sido confirmado con las exploraciones funcionales tiroideas pertinentes. La etiología del hipotiroidismo ha sido múltiple: mixedemas o tiroidectomías totales; en dos casos el hipotiroidismo estaba originado por una sobredosificación de drogas antitiroideas.

En estos enfermos, al contrario de como pudimos proceder con los hipertiroideos, no hemos tenido la oportunidad de seguir la evolución clínica y bioquímica experimentada después de efectuar el tratamiento farmacológico adecuado a cada caso.

IV. Cirrosis hepáticas (Grupo C)

Este grupo está formado por 60 pacientes distintos diagnosticados de cirrosis hepática. Las edades de estos enfermos, 28 hombres (grupo C1) y 32 mujeres (grupo C2), han variado entre los 39 y los 79 años (media \pm SD: 59.4 \pm 9.4 años). La mayoría de ellos habían ingresado repetidas veces en el Hospital y seguían tratamiento médico desde años atrás. El diagnóstico había sido asegurado con estudio histológico, por medio de punción-biopsia o laparoscopia con biopsia, en 29 ocasiones. El resto de estos pacientes carecía de confirmación anatómo-patológica; ello era debido en general a que el estudio de la coagulación sanguínea contraindicó la realización de este tipo de exploración. La etiología estaba en relación con etilismo crónico en 37 casos y con un antecedente de hepatitis aguda en 10 enfermos; un caso estaba diagnosticado de cirrosis biliar primaria y 12 más habían sido catalogados como cirrosis criptogénicas. Desde el punto de vista clínico existía una evidente descompensación hidrópica en 24 pacientes y sólo uno estaba en coma hepático; el resto se encontraba en situación estable. Ninguno de ellos —y en este aspecto pusimos especial interés— había presentado hemorragias digestivas, ni estaba en situación de oligoanuria, ni había sido transfundido, en la semana previa a nuestro estudio. Por el contrario, a seis enfermos se les administraba oxígeno de forma estable y continua.

V. Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (Grupo B)

En este grupo hemos incluido 44 enfermos, 34 hombres y 10 mujeres, de edades comprendidas entre los 24 y los 86 años (media \pm SD: 61.5 \pm 15.0 años) y que han sido estudiados en 47 ocasiones distintas. El diagnóstico, evidente desde el punto de vista clínico y analítico, contaba con confirmación gasométrica arterial y con exploraciones funcionales respiratorias, efectuadas

en todos ellos en varias ocasiones durante sus múltiples ingresos en el Hospital a lo largo de los últimos años. Han sido motivos de exclusión del grupo la presencia de insuficiencia renal aguda o el haber sufrido sangrías en las 48 horas previas al estudio. Por el contrario, no ha sido tenido en cuenta, entre otras razones por aquéllas de orden práctico, el que estos enfermos estuvieran sometidos a oxigenoterapia en el tiempo del estudio y anteriormente, a condición de que la administración de oxígeno fuera estable en las horas previas a nuestro examen.

VI. Insuficiencias renales crónicas (Grupo R)

Este último grupo está constituido por 39 enfermos, 16 hombres y 23 mujeres, de edades que han oscilado entre los 23 y los 78 años (media \pm SD: 51.7 \pm 14.4 años) y que han sido estudiados 68 veces en total.

Todos ellos presentaban una insuficiencia renal crónica severa, con aclaramiento de creatinina endógena en todos los casos por debajo de los 20 ml/minuto y, en general, por debajo de los 10 ml/minuto; 29 pacientes estaban incluidos en un programa de hemodiálisis periódica y acudían regularmente a nuestro Hospital o a otro Centro (20 enfermos); su situación clínica podía catalogarse como estable. Los 10 casos restantes –también con insuficiencia renal crónica severa–, por el contrario, no habían sido dializados nunca y habían sido ingresados con motivo de una agudización del proceso renal. Las causas etiológicas de la enfermedad han sido múltiples y la totalidad de los enfermos tenían una historia clínica detallada, en muchos casos con estudio histológico renal.

De los 68 estudios efectuados, los 30 primeros han correspondido a los 10 pacientes no incluidos en programas de depuración extrarrenal y a los 20 renales crónicos sometidos a hemodiálisis periódica en un Centro distinto al Hospital Clínico de San Carlos. Los 38 exámenes restantes e independientes de los anteriores son el resultado de 19 estudios previos y 19 posteriores a una sesión de hemodiálisis (9 enfermos en el Servicio de Regulación Humoral del Hospital Clínico y 10 de los 20 renales crónicos ya citados, extraños a nuestro Hospital). Al plantear este último tipo de experiencia pretendemos determinar y valorar las modificaciones que estos procedimientos terapéuticos inducen, por distintos motivos, en los parámetros bioquímicos por nosotros estudiados.

Como en todos los grupos de enfermos anteriores, ha sido motivo de exclusión de nuestro protocolo de trabajo el antecedente de hemorragias agudas o de transfusiones sanguíneas en la semana anterior a nuestros exámenes.

B. PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS

En este protocolo, los parámetros hemáticos estudiados han sido diferentes para cada uno de los grupos de enfermedades a los que nos hemos referido en el apartado anterior. El sexo (mascu-

lino: M - femenino: F) y la edad han sido valorados en todos los casos, tanto sanos como enfermos. También han sido prácticamente sistemáticas las determinaciones del índice hematocrito (Hcto), la tasa de hemoglobina (Hb) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) en los 315 estudios efectuados. Lógicamente, el 2,3-difosfoglicerato intraeritrocitario (2,3-DPG) ha sido la investigación de realización inexcusable en todos ellos. Estos han sido los únicos datos valorados en los controles sanos y en el grupo de enfermos con anemia simple, de tal forma, que siempre han sido determinaciones realizadas en muestras tomadas simultáneamente para cada caso. En el grupo de enfermedades tiroideas, junto a estos parámetros hemáticos mencionados y también de forma simultánea con ellos, se han obtenido extracciones de sangre en ayunas para las valoraciones del fosfato sérico inorgánico (P), glucemia (G), nitrógeno ureico plasmático (BUN), kaliemia (K⁺), bicarbonato sérico (CO₃H⁻), hormonas tiroideas circulantes (triyodotironina ó T3 y tiroxina ó T4 séricas) y hormona tiroestimulante (TSH). Todo ello, como hemos dicho, en la misma mañana del estudio, con la salvedad de algunas excepciones en cuanto al análisis de P, G y CO₃H⁻, que nunca se han retrasado más de 48 horas.

En el grupo de enfermos diagnosticados de cirrosis hepática han sido efectuados, de forma prácticamente sistemática, todas las determinaciones hasta ahora mencionadas, salvo las hormonas tiroideas, pero además se ha realizado siempre un análisis de pH y gases respiratorios en sangre arterial y en algunos casos de lactato en sangre venosa. La toma de muestras para estos últimos estudios —y en ello hemos puesto especial cuidado— ha coincidido con el mismo momento de la extracción de sangre para los exámenes de Hb, Hcto, CHCM y 2,3-DPG.

El protocolo de estudio seguido para los grupos de pacientes afectados de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o de insuficiencia renal crónica severa (IRC) ha sido prácticamente superponible al expuesto a propósito de la cirrosis hepática, con la salvedad de que en ellos no se han hecho determinaciones de lactato en sangre y de que en algunos de los enfermos renales crónicos tampoco se ha practicado la gasometría arterial.

C. METODOS EMPLEADOS

1. La tasa de hemoglobina (Hb) circulante y el índice hematocrito (Hcto) han sido determinados por el método de la cianmetahemoglobina (Hycel, Inc., Houston, Texas) con lectura en fotocolorímetro a 540 nm y por el micrométodo de Wintrobe respectivamente, ambos de uso rutinario en el Laboratorio de Hematología. En todos los casos las determinaciones se han realizado por duplicado. La tasa de Hb se expresa en grannos/100 mililitros de sangre (g %) y el Hcto en mililitros de hematíes/100 mililitros de sangre total (%).

La concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) se obtiene de la fórmula:

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hb (g \%)} }{\text{Hcto (\%)} } \times 100$$

y se expresa también en tanto por ciento (%).

II. Las determinaciones de glucemia (G), nitrógeno ureico en sangre venosa (BUN) y concentraciones de fosfato sérico inorgánico (P) han sido realizadas por el Laboratorio Central del Hospital por medio del "Technicon SMA-12 Multichannel Biochemical Analyzer (Technicon Instruments Corporation, Tarrytown)". Los resultados se expresan en miligramos/100 mililitros de plasma (mg %). Los niveles de potasio (K⁺) y bicarbonato plasmáticos (CO₃H⁻), ambos también valorados por el Laboratorio Central del Hospital y expresados los resultados como miliequivalentes/litro (mEq/l), han sido dosificados por medio de fotometría de llama (fotómetro de llama IL-143, Instruments Laboratory, Lexington, USA) y de colorimetría con lectura continua entre 435 y 550 nm, según el método de van Slike, respectivamente.

III. Las determinaciones de las hormonas tiroideas circulantes, tiroxina (T4) y triyodotironina (T3), y de la hormona tiroestimulante (TSH), han sido efectuadas por el Servicio Central de Isótopos del Hospital, gracias a los "kits" de radioinmunoanálisis de los Laboratorios Abbott. Con ellos los valores normales oscilan entre 5 y 13 µg % y entre 100 y 210 ng % para la primera y la segunda respectivamente y son menores a 2 ng/ml para la tercera.

IV. Para la determinación del pH plasmático y la gasometría en sangre arterial hemos practicado una punción arterial, en anaerobiosis, con el enfermo en decúbito supino (arteria femoral común o radial, indistintamente), con jeringa heparinizada, hasta obtener unos 3 ó 4 mililitros de sangre. Esta muestra ha sido trasladada rápidamente al Servicio de Patología Cardiopulmonar o al Laboratorio de Urgencias, donde se ha procedido a su lectura por medio de los gasómetros Combi-Analyzator MT-3R (L. Eschweiler, Co., Kiel) e IL-Micro-413 (Instruments Laboratory, Lexington, USA) respectivamente. El pH plasmático, la presión parcial de oxígeno arterial (pO₂) y la presión parcial de anhídrido carbónico arterial (pCO₂) se determinan por medidas reales y directas. Estos dos últimos parámetros se expresan en mm Hg. La saturación arterial de oxígeno de la hemoglobina (SaO₂), sin embargo, no es medida directamente, sino que es calculada bien por el aparato o bien por medio de unas tablas-nomograma y se da como tanto por ciento de la capacidad total de saturación (%).

La capacidad total de transporte de oxígeno por la sangre deriva del hecho de que un gramo de hemoglobina puede unirse a 1.34 ml de oxígeno (150), por lo que el contenido arterial de oxígeno de una muestra dada (CaO₂) puede expresarse con la siguiente ecuación:

$$\text{CaO}_2 = \text{Hb (g \%)} \times 1.34 \times \text{SaO}_2 (\%) \times 10^{-2} + 0.0031 \times \text{pO}_2$$

El CaO₂ representa el oxígeno vehiculizado por la sangre, tanto en forma disuelta como unido a la hemoglobina, y se expresa como mililitros de oxígeno/100 mililitros de sangre (ml %).

Somos conscientes de que esta forma de medir el CaO_2 no es totalmente exacta, ya que utilizamos una SaO_2 que no es real, valorada con oxímetro, sino de obtención indirecta a través del pH y de la pO_2 . Sin embargo, y a pesar de ello, este dato nos parece útil para valorar el transporte arterial de oxígeno y para establecer diversas correlaciones con otros parámetros bioquímicos en nuestros enfermos.

V. El lactato en sangre venosa, expresado en miligramos/100 mililitros de sangre ($\text{mg } \%$), se ha medido gracias al "kit" diagnóstico No-826-UV de la Casa Sigma (St. Louis, USA).

VI. Método para la determinación del 2,3-DPG intraeritrocitario

Para esta determinación hemos seguido el método del ácido cromotrópico de Bartlett (21), modificado para muestras de sangre por Eaton et al. (75).

1. Fundamento del método

La técnica de Bartlett (21) está basada en los primitivos estudios de Eegriwe (77) con el 1,3-dihidroxinaftaleno (naftoresorcinol), adaptados posteriormente por Rapoport (176) para ensayos cuantitativos. Estos autores objetivaron una reacción coloreada de este compuesto con los gliceratos. Bartlett (21) ha puesto de manifiesto cómo, además del naftoresorcinol, el 2,7-dihidroxinaftaleno, y sobre todo el 4,5-dihidroxi-2,7-naftaleno sulfónico (ácido cromotrópico), producen un color típico cuando son calentados con gliceratos libres o fosforilados en un medio de ácido sulfúrico concentrado. Este color puede usarse ventajosamente para identificarlos. La reacción del ácido cromotrópico es altamente sensible y selectiva y muy útil por tanto para el análisis cuantitativo de los gliceratos. Este ácido origina, al reaccionar, mucho más color que los otros hidroxinaftalenos y es más específico para aquéllos, ya que no se combina con otros intermediarios glicolíticos o de la vía de las pentosas del eritrocito. La interferencia de todos estos intermediarios a concentraciones similares a las de los gliceratos es menor al 5%, por lo que apenas ocasionan error en el análisis del 2,3-DPG intraeritrocitario (21).

La reacción del ácido cromotrópico produce un color relativamente estable cuya intensidad está en estrecha proporción con las concentraciones del glicerato hasta una cantidad total de un micromol en la cubeta cuando se mide espectrofotométricamente a 690 nm (21). En la Fig. 1 se indica el espectro de absorción de dos soluciones de concentraciones conocidas de 2,3-DPG y ácido cromotrópico en ácido sulfúrico concentrado. Se observa cómo la máxima absorción corresponde a 690 nm.

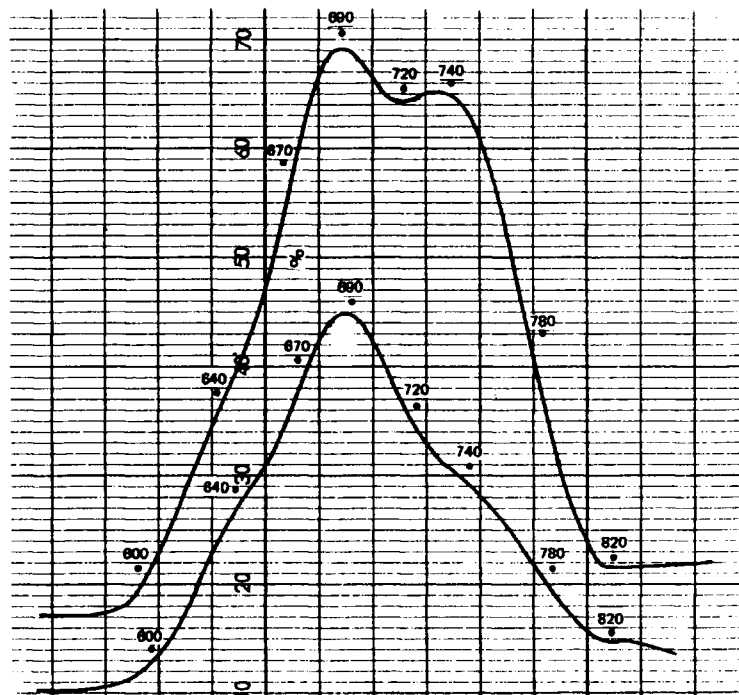


Fig. 1. Espectro de absorción de dos soluciones de concentraciones conocidas de 2,3-DPG y ácido cromotrópico en ácido sulfúrico concentrado. Se observa cómo la máxima absorbancia corresponde a una longitud de onda de 690 nm. Concentraciones de 2,3-DPG en la cubeta: 50 μ M y 25 μ M para las curvas superior e inferior respectivamente. Velocidad de papel: 20 mm/minuto.

2. Extracción de la muestra de sangre

Como anticoagulante para la extracción de la sangre venosa —unos 5 a 10 ml, en dependencia de su Hcto— debe de usarse la heparina, ya que otros compuestos pueden añadir color a este método (75). La sangre venosa así recogida puede guardarse en nevera a 4° C sin desproteínizar por lo menos durante dos horas, ya que el 2,3-DPG es estable y no sufre variaciones en su concentración eritrocitaria en este tiempo (44, 231). Eaton y Brewer (44) han comprobado que la sangre heparinizada apenas alteraba su contenido en 2,3-DPG después de seis horas a 4° C (44). Los efectos de otros anticoagulantes no son conocidos (44).

3. Preparación del extracto del precipitado

Una vez obtenida la muestra de sangre como hemos explicado, debe de procederse a su precipitación para conseguir así un extracto del líquido sobrenadante, en el cual determinaremos el 2,3-DPG. Previamente a ello deben de realizarse primero una sustracción del plasma y a continuación tres lavados sucesivos de los hematíes con suero salino isotónico helado, con centrifugación en frío a 4° C durante 15 minutos y a 3,000 g cada vez.

Eaton et al. (75) aconsejan restar de la densidad óptica del extracto de sangre total (que es lo que ellos precipitan) la densidad óptica del plasma en cada ejemplo o problema, ya que este plasma contribuye a dar cierta coloración, que varía en su proporción, con la técnica del ácido cromotrópico, de unos individuos a otros. De esta manera, los mencionados autores corregían el error. A nosotros (201, 202) nos ha parecido más sencillo simplemente eliminar el plasma del primer centrifugado.

Del último lavado, y una vez desechado el suero salino, se extrae con pipeta siliconada 1 ml de hematíes concentrados (packed cells), que se trasvasan a otro tubo de ensayo. Debe de procurarse que este mililitro sea de auténticos hematíes y que lleve la menor proporción posible de agua, ya que de ello dependerá la veracidad de los resultados que obtengamos. Para conseguir este objetivo debe de recordarse que los hematíes han de recogerse con la pipeta del fondo del tubo de ensayo tras la última centrifugación de la sangre y que antes de efectuarse esta maniobra debe de haberse eliminado (con pipeta Pasteur) todo el agua sobrenadante, incluso arrastrando parte de los hematíes de las capas más superiores. Para valorar hasta qué extremo obteníamos realmente, en nuestros ensayos, un mililitro de hematíes hemos procedido en 60 muestras consecutivas de sangre a realizar un Hcto en el concentrado de hematíes, que además hemos correlacionado con el Hcto original de la sangre venosa total.

La precipitación de los hematíes se realiza con ácido tricloroacético (TCA). El TCA es un agente muy adecuado para conseguir extractos cuando se desea una buena claridad óptica. La concentración de TCA necesaria en cada caso dependerá de si se trata de desproteinizar sangre total (y por ello de su Hcto y contenido en lípidos) o células rojas, y de sus volúmenes relativos. Las concentraciones mínimas del agente precipitante necesarias para conseguir un extracto satisfactorio se pueden obtener de diversas tablas. El TCA debe utilizarse a una temperatura entre 0° y 4° C y después de ser añadido a los hematíes en el tubo ha de agitarse vigorosamente unos minutos. A continuación, esta mezcla se deja en reposo a 4° C por lo menos unas 12 horas, para asegurar que la precipitación de la proteína sea completa (231). Nosotros, en general, hemos esperado unas 24 horas antes de proceder a obtener el extracto final del precipitado. La concentración mínima de TCA (peso a volumen) con que se obtiene un buen precipitado depende de la relación entre el volumen de hematíes y el volumen del agente precipitante. Nosotros, y de acuerdo con Eaton et al. (75), hemos utilizado una proporción de 4 ml de TCA por 1 ml de eritrocitos concen-

trados. En estas condiciones, la concentración mínima necesaria es del 5 ‰. En la práctica es aconsejable utilizar una concentración superior, que da la certeza de obtener un filtrado claro de cada muestra. Eaton et al. (75) utilizan 2 ml de TCA al 6.7 ‰ para 1/2 ml de sangre total. Nosotros hemos empleado una solución de TCA al 10 ‰ en la proporción ya dicha de 4 ml a 1 ml de hematíes concentrados.

El ácido perclórico (PCA) también origina un extracto particularmente claro. Los cálculos de dilución son algo más engorrosos porque hay que realizar varios ajustes de volúmenes. Este ácido es útil para la extracción de compuestos ácido-lábiles, lo cual no es el caso del 2,3-DPG, que es estable al ácido y al calor y se distingue del 1,3-DPG y del ATP sobre esta base (221). El extracto, tras la desproteinización, debe de ser neutralizado con carbonato potásico 1 a 3 M hasta un pH entre 6.0 y 8.0.

Después de la precipitación de los hematíes con el TCA al 10 ‰ y la espera obligada por lo menos de unas 12 horas, se procede a la obtención del extracto final mediante centrifugación en frío a 4° C durante 15 minutos a 3,000 g. Este líquido sobrenadante es el que utilizaremos para la dosificación del 2,3-DPG. La precipitación llevada a cabo de las proteínas del glóbulo rojo con TCA no acarrea pérdidas en el 2,3-DPG y los extractos, libres de ellas, pueden ser conservados de forma estable varios meses —en nuestras experiencias, al menos tres meses— sin descenso apreciable de la concentración de 2,3-DPG, si se guardan en nevera a 4° C (79, 106). También pueden ser congelados (44). El TCA en sí mismo debe de ser guardado también en nevera a 4° C y así permanece estable varios meses.

4. Preparación del ensayo

Inmediatamente antes de ser usada ha de prepararse una solución al 0.01 ‰, peso a peso, de ácido cromotrópico en ácido sulfúrico concentrado (95-97 ‰; densidad = 1.84 kg/litro). El extracto-problema de TCA, donde se encuentra el 2,3-DPG que queremos dosificar, se diluye en la solución así preparada a una razón de 0.1 ml de extracto por 4 ml de disolución de ácido cromotrópico en ácido sulfúrico (en este aspecto seguimos la modificación introducida por Eaton et al. (75), ya que en la técnica original Bartlett (21) utilizaba una proporción de 0.2 ml a 5.8 ml y tal proporción nos parece menos apropiada si tenemos en cuenta que un exceso de agua inhibe la formación de color). A continuación se preparan unas diluciones "standard" de concentraciones conocidas y crecientes de 2,3-DPG, que también se diluirán, como el extracto-problema, en 4 ml de la solución del cromotrópico en sulfúrico. Posteriormente, problemas y "standards" deben de ser calentados en agua hirviendo a temperatura constante de 100° C durante, por lo menos, 135 minutos (nuevamente seguimos aquí la modificación de Eaton et al. (75), que aumentan el tiempo de incubación a 100° C desde 120 a 135 minutos, para asegurar así una hidrólisis completa).

Los "standards" de 2,3-DPG de concentraciones crecientes y conocidas se preparan a partir de una disolución patrón 1 mM de sal de pentaciclohexilamonio cristalizada de 2,3-DPG en agua destilada. Esta solución patrón es estable al menos seis meses si se guarda en nevera a 4° C.

Nosotros hemos utilizado ocho diluciones de concentraciones conocidas de esta solución patrón de 2,3-DPG en los 4 ml de ácido cromotrópico en ácido sulfúrico. De esta forma hemos obtenido, al ser calentadas junto con los extractos-problema y tras la lectura espectrofotométrica a 690 nm, una curva patrón sobre la que podemos valorar las concentraciones de cada muestra de extracto problema. La disposición, en resumen, de los tubos en la gradilla del baño de agua es la siguiente:

Tubo n.º	1	2	3	4	5	6	7	8	Blanco	E ₁	E ₂
Sol. patrón 2,3-DPG (ml)	0.025	0.05	0.075	0.1	0.125	0.15	0.175	0.2	—	—	—
Sol. cromotrópico (ml)	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Extracto problema (ml)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1	0.1

En cada ensayo hemos utilizado dos tubos blancos, ya que nuestro espectrofotómetro es de doble haz. E₁, E₂, etc. representan los sucesivos extractos-problema.

En la curva patrón la linealidad entre las medidas leídas a 690 nm y las concentraciones "standard" conocidas y crecientes de 2,3-DPG es muy buena hasta 5.00 mM de 2,3-DPG en sangre total (231). Bartlett (21) obtuvo para 0.2 micromoles de 2,3-DPG en la cubeta una lectura espectrofotométrica de densidad óptica de 0.28.

Nuestra manera de proceder en cada ensayo ha sido la de disponer, junto a los tubos de la curva patrón (esta última efectuada sistemáticamente cada vez que hemos preparado un ensayo), los tubos de cada extracto-problema, siempre por duplicado para cada uno y en un total que ha variado entre 10 y 20 muestras problema diferentes en cada ensayo. De esta forma cada extracto-problema de TCA se ha comparado, por duplicado, con su curva patrón preparada simultáneamente. En la gradilla en el baño de agua se han dispuesto en conjunto, por lo tanto, entre los de la curva, los problemas y los blancos, de 30 a 50 tubos de ensayo.

La lectura espectrofotométrica se ha efectuado, como ya hemos dicho, a 690 nm mediante cubetas de vidrio de un paso de luz de 1 cm, capaces de contener 4 ml de solución.

Las determinaciones de 2,3-DPG en la mayoría de los extractos-problema han sido repetidas en tres o cuatro ocasiones, raramente sólo en dos, y por duplicado cada vez. Como resultado final de todo ello se ha tomado la media aritmética.

5. Cálculo final de la concentración del extracto

Para obtener el resultado final de la concentración eritrocitaria de 2,3-DPG de cada uno de los enfermos estudiados, a partir de la lectura de la densidad óptica o absorbancia a 690 nm de cada

extracto-problema hemos recurrido a una representación gráfica, en coordenadas cartesianas, de la curva patrón, en la que en las abscisas disponemos el contenido de 2,3-DPG de cada uno de los ocho tubos "standard" y en las ordenadas su densidad óptica (Fig. 2). Sobre esta curva hemos leído la absorbancia de cada problema con toda sencillez.

Para el cálculo de la concentración del 2,3-DPG han de recordarse las diluciones realizadas para cada extracto (1 a 4 en TCA) y que posteriormente se ha disuelto 0.1 ml de extracto en 4 ml de solución de ácido cromotrópico en ácido sulfúrico.

Para el cálculo final de la concentración de cualquier sustancia en los glóbulos rojos es necesario hacer la corrección adecuada para el grado de dilución llevado a efecto durante el proceso de precipitación. Esto se debe al hecho de que en la composición de los hematíes hay una parte sólida, compuesta esencialmente por proteínas. Por ello, tras su precipitación, las sustancias solubles se diluyen en un volumen de fluido real que es efectivamente menor que la suma de los volúmenes de la solución precipitante (en nuestro caso TCA) y de los hematíes (231). Es conveniente y relativamente exacto asumir que cada ml de hematíes contiene una fase de 0.71 ml de agua (la sangre total tiene 0.81 ml y el plasma con proteinemia normal tiene 0.92 ml de agua por ml de sangre y plasma respectivamente) (79). Por ello, la dilución (D) de una sustancia durante la precipitación se obtiene al dividir el volumen de hematíes (H) por la suma del volumen de la solución precipitante (P) y 0.7 veces el volumen de hematíes. Es decir, en nuestro caso:

$$D = \frac{H}{P + 0.71 H} = \frac{1}{4 + 0.71}$$

Por ello, cada ml de hematíes se ha diluido realmente 4.7 veces. Al haber utilizado 0.1 ml del extracto, la lectura sobre la curva patrón habrá que multiplicarla por el factor de dilución 47 para saber así la concentración final en micromoles de 1 ml de hematíes, o lo que es lo mismo, en milimoles/l ó milimolar de hematíes (mM).

La concentración de los metabolitos intermediarios en el hematíe puede expresarse de tres maneras distintas: por célula, o mejor, por 10^{10} células; por ml, o mejor, por litro de hematíes; o por gramo de Hb. La forma más lógica de expresar los resultados sería la de dar su concentración por volumen de hematíes o de la fase acuosa de los hematíes; conviene recordar, sin embargo, que el Hcto de los eritrocitos concentrados nunca llega al 100 %, como discutiremos al tratar sobre los resultados, y que no siempre es fácil medir, por su elevada densidad, 1 ml de estos hematíes. A pesar de ello, nosotros hemos expresado nuestros resultados principalmente bajo la forma de μ moles de 2,3-DPG/ml de hematíes o, lo que es lo mismo, en concentración milimolar (mM). Para transformar estos valores a μ moles/g Hb basta proceder de la siguiente forma:

$$2,3\text{-DPG } (\mu\text{moles/g Hb}) = 2,3\text{-DPG (mM)} \times \frac{\text{Hcto } (\%) }{\text{Hb (g } \%)}$$

En todos nuestros casos también hemos expresado los resultados de esta última forma, aunque a la hora de realizar las representaciones gráficas sólo hemos utilizado el primero de los dos procedimientos.

6. Control de calidad

Para la estimación de la calidad del método utilizado en las determinaciones del 2,3-DPG intraeritrocitario hemos aplicado solamente los criterios de la reproductibilidad de los resultados y de la precisión de la técnica, que se han valorado mediante los respectivos coeficientes de variación.

Para establecer la reproductibilidad de los resultados hemos distinguido entre dos tipos de procedimientos, que denominamos intra-e interensayo, respectivamente. Llamamos reproductibilidad intraensayo a la que se establece entre las lecturas espectrofotométricas de los duplicados de un mismo extracto-problema, preparados y calentados a 100° C de forma simultánea en el mismo ensayo. Para calcular su coeficiente de variación hemos tomado al azar 100 duplicados sucesivos.

Llamamos reproductibilidad interensayo a la que se establece entre las lecturas espectrofotométricas de un mismo extracto-problema, preparado y calentado a 100° C, en dos o más ensayos distintos y sucesivos. Para calcular su coeficiente de variación hemos considerado 50 extractos-problema elegidos al azar y que habían sido estudiados en tres o más ocasiones diferentes.

Para establecer la precisión del método hemos preparado dos tipos de soluciones de concentraciones conocidas de 2,3-DPG (25 y 37.5 μ M respectivamente), cada una de las cuales ha sido dosificada en 15 ensayos distintos y sucesivos, por lo tanto, entre ambas, en total, en 30 ocasiones. Posteriormente hemos calculado el coeficiente de variación entre la concentración obtenida y la real. Hemos elegido las concentraciones de 25 y 37.5 μ M por ser entre esos límites donde se encuentran la mayor parte de nuestros resultados.

D. MATERIAL UTILIZADO

Vamos a enumerar simplemente los reactivos y aparatos de importancia empleados realmente por nosotros en el estudio de cada caso al dosificar el 2,3-DPG, sin hacer mención de los propios de las determinaciones que han sido efectuadas por otros Servicios o Departamentos del Hospital y que han completado el análisis de cada enfermo.

I. Reactivos

- 1) Acido tricloroacético (Art. 807; E. Merck, Darmstadt).
- 2) Acido sulfúrico 95-97 % (Art. 731; E. Merck, Darmstadt).
- 3) Acido cromotrópico (Art. 2498; E. Merck, Darmstadt).
- 4) Sal cristalizada de pentaciclohexilamonio de 2,3-DPG, tetrahidratada y de peso molecular 834.0 (Boehringer, Mannheim).

II. Aparatos

- 1) Centrífuga y lector de microhematocrito (Hawksley, Gelman Instruments, Inglaterra).
- 2) Fotocolorímetro Spectronic - 20 (Bausch-Lomb, Bélgica).
- 3) Centrífuga refrigerada RC-5 Superspeed Refrigerated Centrifuge Sorvall (Dupont Instruments, USA).
- 4) Espectrofotómetro Beckman DB-GT (Beckman Instruments, Inc., USA).

E. CALCULO ESTADISTICO (1, 100, 130, 153)

En la estimación de nuestras muestras hemos utilizado como medida de centralización la media aritmética (\bar{x}) y como parámetros de dispersión el "rango" o recorrido y la desviación standard (SD), definidos de la siguiente forma:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad SD = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}$$

Ocasionalmente nos hemos referido al error standard de la media (SEM) cuando el número de casos de la muestra era superior a 100 y según la fórmula:

$$SEM = \frac{SD}{\sqrt{n - 1}}$$

En cada grupo, después de las tablas en donde se expresan los resultados individuales de cada enfermo, se expone una tabla-resumen con estos parámetros de estimación estadística.

En el estudio de la homogeneidad de las muestras hemos empleado la comparación de las medias siempre con el criterio de la distribución de Student, aunque el colectivo de algunos de

nuestros grupos haya sido superior a 100. Hemos utilizado el t-test de Student, definido como:

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} \sqrt{\frac{n_1 SD_x^2 + n_2 SD_y^2}{n_1 + n_2 - 2}}}$$

En ningún caso hemos manejado el t-test para datos apareados.

Para valorar la significación estadística (p) de la "t" así obtenida hemos recurrido a las tablas científicas "Documenta Geigy", que en su sexta edición han sido editadas por J.R. Geigy, S.A. (Basilea, Suiza, 1965). Hemos hablado de diferencias significativas entre dos medias a partir de una "p" inferior o menor a 0.05. En cada grupo estudiado, después de las tablas de resultados, incluimos otra tabla donde se expresan los datos obtenidos de esta comparación entre medias aritméticas.

En el problema de la relación entre dos variables en una misma población hemos supuesto una regresión lineal en el diagrama de dispersión. La ecuación de ajuste correspondiente es por tanto la ecuación de la recta "de regresión" ($y = ax + b$), en donde "a" y "b" son los coeficientes de regresión, que se pueden calcular con la fórmula:

$$a = \frac{\sum yx - \bar{y} \sum x}{\sum (x - \bar{x})^2}; \quad b = -a\bar{x} + \bar{y}$$

El coeficiente de correlación lineal se obtiene de la expresión:

$$r = \frac{\sum yx - \bar{y} \sum x}{n SD_x \cdot SD_y}$$

Para determinar la significación estadística frente a cero de este último hemos recurrido nuevamente a las tablas Geigy. Hemos estimado que el coeficiente de correlación difiera significativamente de cero a partir de una "p" menor de 0.05, es decir, a una probabilidad de error del 5%. Coeficientes de correlación y regresión, ecuación de la recta y significación estadística (p) se incluyen en tablas independientes al final de las otras de resultados para cada grupo de enfermos estudiados. En estas tablas, que expresan el ajuste entre dos variables, se ha considerado como variable dependiente (y) al 2,3-DPG y sucesivamente como variables independientes (x) al resto de los parámetros bioquímicos determinados en cada grupo de enfermedades.

Al considerar en determinados casos el problema de la correlación entre el 2,3-DPG y el pH plasmático hemos incurrido conscientemente en el error de no transformar previamente las unidades de pH (de escala logarítmica) en unidades de concentración de hidrogeniones (de escala de

cimal). El error que introducimos con ello es pequeño, por los estrechos márgenes entre los que varía el pH plasmático de nuestros casos, pero en cambio con ello agilizamos considerablemente los cálculos.

Para la elaboración de los datos estadísticos nos hemos valido de la calculadora programable Sharp Pocket Computer Elsi Mate PC-1201.

RESULTADOS

- A. Control de calidad del método**
- B. Sujetos sanos**
- C. Anemias de diverso origen**
- D. Enfermedades tiroideas**
- E. Cirrosis hepáticas**
- F. Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas**
- G. Insuficiencias renales crónicas**
- H. La relación entre la hemoglobina y el 2,3-DPG en el conjunto de los enfermos estudiados**

A. CONTROL DE CALIDAD DEL METODO

I. Veracidad del concentrado de hematíes

Los Hctos efectuados en las 60 muestras consecutivas de hematíes concentrados ("packed cells") han estado por encima del 90 % en todos, salvo en siete casos, en los que estos valores se han encontrado entre el 85 y el 90 %. En ninguna ocasión el Hcto de este concentrado ha sido inferior al 85 %. En estas 60 determinaciones consecutivas la media aritmética (\bar{x}) y la desviación standard (SD) han sido 93.78 % y 3.59 % respectivamente, mientras que estos mismos parámetros estadísticos en los Hctos originales (es decir, aquellos Hctos reales de cada enfermo en el momento de la extracción) han sido 40.96 % y 9.85 %, también respectivamente. Hemos establecido una correlación lineal, que ha resultado ser estadísticamente significativa ($p < 0.01$), con un coeficiente de correlación igual a 0.3701, entre los valores reales del Hcto de cada enfermo o Hcto original (HO) y los obtenidos en el concentrado de hematíes o "packed cells" (PC) para el mismo enfermo.

Estos resultados y la ecuación de la recta de regresión se resumen en la tabla 1.

Tabla 1: Hcto de hematíes concentrados (PC) y de la sangre total de la que se han extraído (HO) en 60 muestras.

n = 60 pares	PC	HO
\bar{x} (%)	93.78	40.96
SD (%)	3.59	9.85
$r = 0.3701$	PC = 0.13 HO - 88	

II. Curvas patrón de 2,3-DPG

Hemos realizado un total de 200 curvas patrón de 2,3-DPG, cada una construida sobre una base teórica de ocho puntos (cada una de las ocho diluciones de concentración conocida de la solución patrón 1 mM de 2,3-DPG). Sobre cada una de las curvas patrón individualmente hemos obtenido los resultados de cada extracto-problema. La media aritmética (\bar{x}), la desviación standard

(SD) y dos veces el valor del error standard de la media (2 SEM) de las absorbancias para cada uno de los ocho puntos de estas 200 curvas patrón se reflejan en la tabla 2, donde se indica también el número real (n) de determinaciones de cada punto. En la figura 2 se representa la recta de ajuste o recta "standard", media de las 200 curvas patrón. En las abscisas se indican el contenido total de 2,3-DPG en la cubeta (en μ moles) y su concentración (μ M) para cada tubo. En las ordenadas se refleja la absorbancia a 690 nm..

Tabla 2: Resultados medios obtenidos de 200 curvas patrón de 2,3-DPG intraeritrocitario determinadas por el método del ácido cromotrópico de Bartlett.

Tubo n.º	1	2	3	4	5	6	7	8
concentración (μ M)	6.25	12.5	18.75	25	31.25	37.5	43.75	50
n	169	194	198	198	197	191	177	155
\bar{x}	0.032	0.075	0.117	0.157	0.191	0.226	0.257	0.288
SD	0.010	0.014	0.016	0.022	0.022	0.025	0.026	0.030
2 SEM	0.001	0.002	0.002	0.003	0.003	0.003	0.004	0.004

III. Reproducibilidad de los resultados y precisión del método

El coeficiente de variación de la reproducibilidad intraensayo —es decir, la reproducibilidad que se establece para la misma muestra analizada por duplicado en el mismo ensayo— ha sido, para 100 extractos distintos tomados al azar de forma sucesiva, de 2.72 %.

El coeficiente de variación de la reproducibilidad interensayo —es decir, la reproducibilidad que se establece para la misma muestra analizada en ensayos diferentes, pero sucesivos— ha sido, para 50 extractos distintos tomados al azar, sucesivamente, de 4.38 %.

El coeficiente de variación obtenido a través de las 30 determinaciones analíticas de las dos soluciones de concentraciones conocidas de 2,3-DPG, preparadas para la estimación de la precisión del método del ácido cromotrópico de Bartlett (21), ha sido de 2.69 %.

B. SUJETOS SANOS (GRUPO N)

Los resultados individuales obtenidos en el estudio de cada uno de los 120 sujetos sanos (grupo N), 60 hombres (grupo N1) y 60 mujeres (grupo N2), aparecen reflejados en las tablas 3 y 4. En la tabla 5 se resumen estos hallazgos para todos los parámetros analizados según la forma

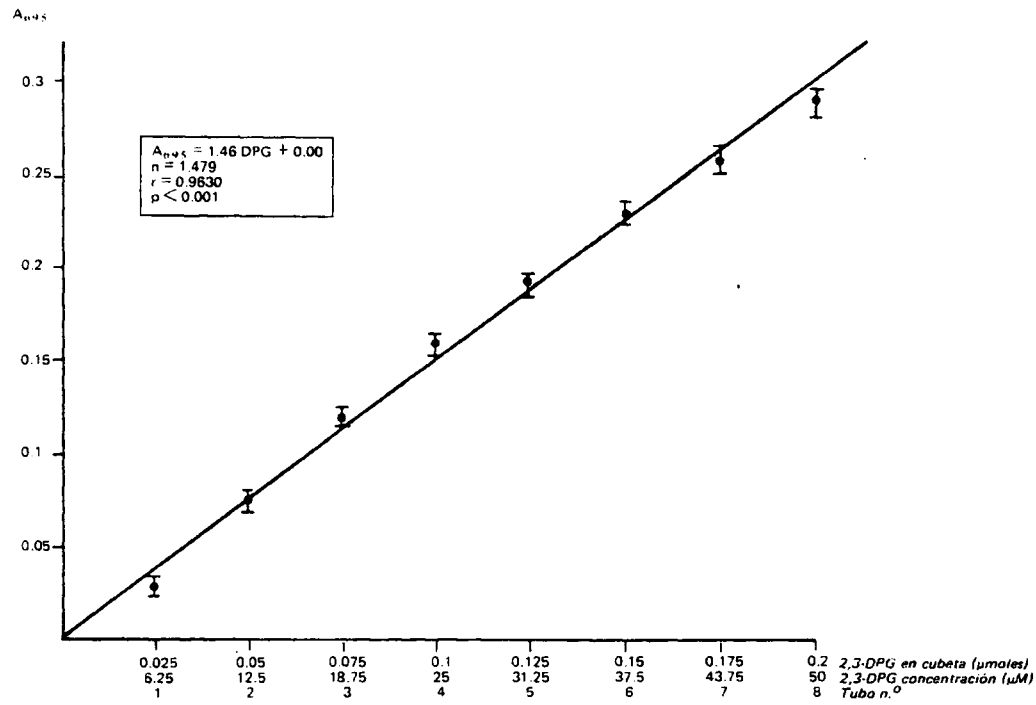


Fig. 2. Curva standard de 2,3-DPG obtenida con las medias aritméticas para cada uno de los ocho puntos de las 200 curvas patrón. En las abscisas se indican el contenido total de 2,3-DPG en cada una de las ocho cubetas (en micromoles), así como su concentración en micromoles/litro (μM). En las ordenadas se expresa la absorbancia a 690 nm. En recuadro se exponen la ecuación de la recta, el número total de puntos (n), el coeficiente de correlación (r) y su significación estadística (p). Para cada punto se indica además dos veces el valor del error standard de la media (2 SEM): Φ .

Tabla 3: Hallazgos en personas sanas del sexo masculino.

Hombres normales	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG ($\mu\text{mol/g Hb}$)
1. RSO	76	15.9	51	31.1	5.21	16.73
2. RSZ	67	16.1	51	31.5	5.40	17.12
3. RSU	62	13.2	42	31.4	5.12	16.30
4. ASA	61	13.0	45	28.8	4.70	16.26
5. RST	61	15.3	52	29.4	4.98	16.93
6. APG	57	12.3	43	28.6	4.98	17.41
7. FGG	50	13.2	46	28.6	5.12	17.85
8. ENB	50	15.2	49	31.0	3.99	12.87
9. ENT	50	15.5	48	32.2	3.85	11.93
10. PRG	50	15.2	46	33.0	5.17	15.64
11. NEL	46	16.0	46	34.7	5.07	14.59
12. MFF	45	16.5	50	33.0	4.08	12.39
13. JSG	39	17.1	50	34.2	3.61	10.58
14. NNP	35	13.9	42	33.0	4.98	15.05
15. JMM	35	17.1	52	32.8	4.08	12.43
16. ISL	34	17.1	51	33.5	3.94	11.77
17. PFM	33	15.5	50	31.0	3.76	12.12
18. MTM	32	15.2	45	33.7	5.17	15.30
19. ARR	32	19.6	56	35.0	4.65	13.29
20. PAA	30	14.8	45	32.8	4.23	12.86
21. JMA	30	17.8	51	34.9	4.13	11.85
22. JES	28	15.2	43	35.3	5.49	15.55
23. DGU	27	14.8	46	32.1	3.43	10.66
24. ECM	26	16.2	48	33.7	5.45	16.15
25. RSH	25	15.1	47	32.1	3.43	10.67
26. FII	25	16.1	48	33.5	4.93	14.71
27. ACC	25	14.2	47	30.2	3.85	12.75
28. MAA	25	14.2	48	29.5	4.04	13.66
29. JSD	25	15.5	46	33.6	4.88	14.50
30. HAB	25	17.4	53	32.8	4.13	12.59
31. JQQ	24	14.8	43	34.4	4.88	14.20
32. MAT	24	15.5	50	31.0	3.85	12.43

Tabla 3 (Continuación)

Hombres normales	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG ($\mu\text{mol/g Hb}$)
33. JMD	23	16.9	48	35.2	4.98	14.15
34. JVA	23	13.3	42	31.6	4.74	14.99
35. MRV	23	20.0	56	35.7	4.13	11.58
36. SCC	22	15.3	46	33.2	4.70	14.13
37. SAA	22	14.8	45	32.8	3.71	11.28
38. ADD	22	14.5	49	29.5	5.64	19.05
39. JST	22	15.9	46	34.5	4.08	11.82
40. FER	21	16.6	47	35.3	4.70	13.30
41. PMF	21	14.7	45	32.6	4.70	14.38
42. JLD	20	14.5	48	30.2	4.04	13.38
43. SRV	20	15.9	45	35.3	3.76	11.17
44. PRV	20	14.8	44	33.6	3.85	11.45
45. GBL	19	17.0	51	33.3	3.66	10.99
46. FLM	19	13.3	40	33.2	4.13	12.43
47. ASH	16	16.4	44	37.2	4.04	10.79
48. JCC	16	16.1	43	37.4	4.84	12.92
49. JLL	15	15.7	43	36.5	4.93	13.51
50. JPQ	15	13.4	39	34.3	4.46	12.99
51. JTD	15	14.3	42	34.0	4.23	12.42
52. RPL	13	13.3	40	33.2	4.93	15.06
53. JVA	12	14.6	45	32.4	5.17	15.93
54. JSG	10	12.0	35	34.2	4.46	13.02
55. SLP	9	13.3	40	33.2	4.65	13.99
56. PAM	8	12.0	35	34.2	4.04	11.78
57. SCG	7	13.6	39	34.8	5.02	15.94
58. SHC	6	12.3	39	31.5	4.65	14.75
59. RMM	6	13.1	40	32.7	3.85	11.76
60. JMF	1	12.5	37	33.7	4.18	12.38

Tabla 4: Hallazgos en personas sanas del sexo femenino.

Mujeres normales	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG ($\mu\text{mol/g Hb}$)
1. RSZ	65	13.8	42	32.8	4.98	15.16
2. RSC	64	16.2	48	33.7	5.49	16.29
3. RSA	59	15.3	46	33.2	5.21	15.68
4. APN	57	15.5	48	33.3	4.41	13.68
5. ACO	55	14.4	43	33.4	4.60	13.75
6. RPZ	52	14.6	45	32.4	4.74	14.63
7. RZA	52	12.9	41	31.4	5.73	18.22
8. OLG	48	12.8	41	31.2	4.51	14.45
9. MAS	45	14.6	42	34.7	3.99	11.49
10. CFF	40	13.4	41	32.6	5.35	16.39
11. FSB	40	12.2	39	31.2	4.98	15.92
12. FGA	40	13.6	40	34.0	4.08	12.02
13. AVC	40	13.0	39	33.3	4.46	13.39
14. TSM	37	13.8	42	32.8	4.23	12.87
15. AUP	36	14.1	45	31.3	4.23	13.50
16. MBB	35	12.3	43	28.6	4.60	16.10
17. JJM	35	11.5	42	27.3	4.41	16.13
18. EPG	35	13.3	39	34.1	4.98	14.60
19. AHD	35	13.4	42	31.9	3.47	10.90
20. LMM	30	11.5	41	28.0	5.02	17.92
21. APF	28	13.6	44	30.9	4.60	14.90
22. MAG	28	13.1	41	31.9	4.88	15.29
23. MJG	28	12.8	42	30.4	4.46	14.65
24. AMA	28	13.7	40	34.2	4.79	13.99
25. SAR	28	14.2	43	33.0	5.17	15.65
26. PDF	27	12.5	41	30.4	5.17	16.95
27. CLT	26	12.6	40	31.5	4.37	13.87
28. DOF	25	13.2	42	31.4	4.23	13.45
29. MAR	25	11.9	42	28.3	5.31	18.74
30. ROS	25	14.8	46	32.1	4.88	15.19
31. RBV	23	13.1	40	32.7	3.29	10.04
32. PAA	23	15.5	45	34.4	4.79	13.91

Tabla 4 (Continuación)

Mujeres normales	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG ($\mu\text{mol/g Hb}$)
33. CHA	23	13.1	42	31.1	4.98	15.97
34. BEA	23	12.4	42	29.5	5.35	18.14
35. MJM	22	14.8	43	34.4	3.90	11.33
36. MAM	21	14.8	43	34.4	5.17	15.02
37. EMD	21	15.0	44	34.0	5.02	14.75
38. MCR	20	12.6	36	35.0	5.07	14.50
39. CVM	20	14.2	42	33.8	5.64	16.68
40. PMR	20	13.0	40	32.5	4.04	12.43
41. CST	20	13.4	41	32.6	3.85	11.79
42. AMZ	20	14.3	43	33.2	4.04	12.15
43. CLD	19	13.0	39	33.3	5.87	17.62
44. MOO	19	12.2	40	30.5	4.79	15.71
45. ILL	18	13.1	41	31.9	4.74	14.85
46. RLD	18	15.3	45	34.0	4.84	14.23
47. AMR	18	13.8	40	34.5	4.41	12.80
48. CST	18	13.9	42	33.0	4.27	12.92
49. ADG	17	13.0	40	32.5	4.65	14.31
50. BCC	16	12.8	42	30.4	5.02	16.50
51. IMA	15	13.9	43	32.3	4.37	13.52
52. MGB	12	13.0	40	32.5	3.90	12.00
53. VVS	10	13.0	40	32.5	3.85	11.85
54. LBG	10	14.3	44	32.5	3.94	12.4
55. RDT	10	13.8	42	32.8	4.65	14.6
56. GSS	10	14.6	44	33.1	4.70	14.16
57. RBD	9	12.3	36	34.1	3.57	10.45
58. SRP	6	12.0	38	31.5	4.70	14.88
59. RSS	6	13.6	40	34.0	3.76	11.05
60. SRF	5	12.3	39	31.5	3.90	12.36

Tabla 5: Resultados en el grupo control (Grupo N), con referencia a ambos sexos (Grupos N1 y N2) y a dos grupos de edades (Grupos J y V).

Grupo N (n = 120)	Edad (años)	Hb (g % _o)	Hcto (% _o)	CHCM (% _o)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
Rango	1 – 76	11.5 – 20.0	35 – 56	27.3 – 37.4	3.29 – 5.87	10.04 – 18.74
\bar{x}	28.0	14.29	43.74	32.64	4.54	13.98
SD	15.6	1.61	4.20	1.89	0.57	2.05
SEM	1.42	0.14	0.38	0.17	0.05	0.18

Grupo N (normales)	n	Edad (años)	Hb (g % _o)	Hcto (% _o)	CHCM (% _o)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
Grupo N1: Hombres	60	28.4 ± 16.5	15.07 ± 1.69	45.71 ± 4.67	32.96 ± 2.02	4.48 ± 0.57	13.67 ± 2.03
Grupo N2: Mujeres	60	27.6 ± 14.8	13.51 ± 1.05	41.76 ± 2.41	32.33 ± 1.70	4.60 ± 0.57	14.29 ± 2.03
Significación		NS	p < 0.001	p < 0.001	NS	NS	NS

Grupo N (normales)	n	Hb (g % _o)	Hcto (% _o)	CHCM (% _o)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmo:/g Hb)
Grupo J: 1-24 años	60	14.10 ± 1.52	42.36 ± 3.90	33.25 ± 1.67	4.46 ± 0.56	13.50 ± 1.94
Grupo V: desde 24 años	60	14.48 ± 1.88	45.11 ± 4.06	32.03 ± 1.91	4.61 ± 0.57	14.47 ± 2.05
Significación		NS	p < 0.001	p < 0.001	NS	p < 0.01

indicada en Material y Métodos de número de casos (n), rango, media aritmética (\bar{x}) y desviación standard (SD).

En el cuadro superior de esta tabla aparecen reflejados los resultados para los 120 controles sanos tomados en conjunto. Los niveles de 2,3-DPG en ellos oscilan entre los límites de 3.29 y 5.87 mM o entre 10.04 y 18.74 $\mu\text{moles/g Hb}$ con unos valores medios de 4.54 ± 0.57 mM o de 13.98 ± 2.05 $\mu\text{moles/g Hb}$. Las tasas de Hb, Hcto y CHCM se encuentran lógicamente dentro de la normalidad. En el cuadro central de esta tabla 5 disponemos nuestros resultados después de haber separado a estos sujetos control según su sexo (grupos N1 y N2). Es evidente que el grupo N1 (hombres) tiene, como era de esperar, unos niveles de Hb y Hcto significativamente superiores al grupo N2 (mujeres). Sin embargo, las concentraciones de 2,3-DPG no difieren estadísticamente entre ambos sexos a pesar de que, efectivamente, son mayores en el femenino. En la figura 3 se representan gráficamente estos hallazgos.

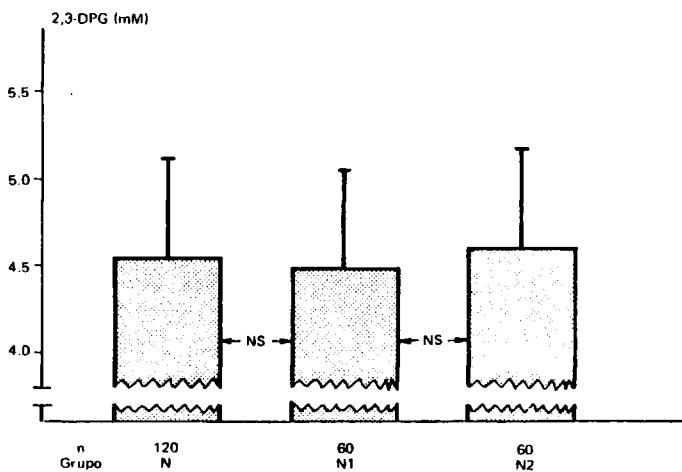


Fig. 3. Valores normales de 2,3-DPG en la población española, en conjunto (Grupo N) y con referencia a ambos sexos (Grupos N1 y N2). Se expresa la media aritmética \pm la desviación standard. (n = número de casos; NS = no significativo: $p > 0.05$).

En el cuadro inferior de la misma tabla 5 hemos expresado los datos en función de la edad. Hemos distinguido un grupo J, de 1 a 24 años, que incluye a 60 individuos, y otro V, desde los 24 años de edad, que recoge a los 60 restantes. Tampoco entre estos dos grupos hay diferencias por lo que se refiere al 2,3-DPG (mM), a pesar de haberlas en cuanto al Hcto y a la CHCM (esto se refleja en el 2,3-DPG cuando se expresa en $\mu\text{moles/g Hb}$). Efectivamente, el grupo J, de edades más bajas, tiene un Hcto inferior al del grupo V, a pesar de lo cual los niveles de 2,3-DPG (mM) son similares. La representación gráfica correspondiente se aprecia en la figura 4.

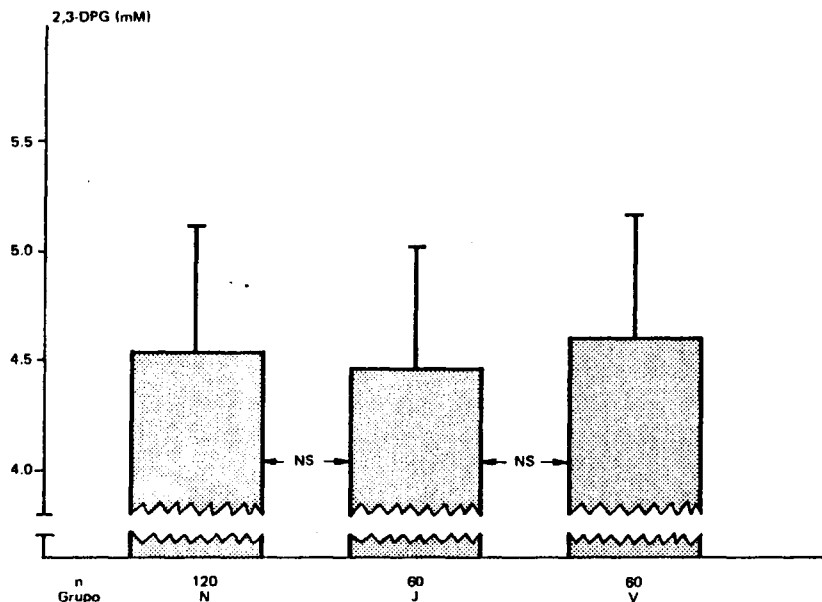


Fig. 4. Valores normales de 2,3-DPG en la población española, en conjunto (Grupo N) y con referencia a dos grupos de edades: 1 a 24 años (Grupo J) y a partir de 24 años (Grupo V). Signos y abreviaturas como en la figura 3.

C. ANEMIAS DE DIVERSO ORIGEN (GRUPO A)

Los resultados individuales obtenidos en el estudio de las 40 anemias crónicas de diversa etiología (anemia simple; en 9 hombres y 31 mujeres) los reflejamos en la tabla 6. Su resumen lo hacemos en la tabla 7. Efectivamente se comprueba cómo en este grupo hay un marcado descenso en la tasa de Hb y en el índice Hcto, parámetros éstos que han oscilado entre 4.9 y 12.2 g % y 17 y 38 %, respectivamente, con unos valores medios de 10.07 ± 1.72 g % y 32.92 ± 5.10 % también respectivamente. En justa correspondencia con estos datos, los niveles intraeritrocitarios de 2,3-DPG se encuentran, para el grupo en conjunto, francamente elevados, oscilando entre 4.37 y 9.25 mM y con una concentración media de 5.79 ± 1.02 mM. Al comparar estos hallazgos con los comentados a propósito de los sujetos sanos (tabla 8 y figura 5) comprobamos cómo la diferencia en cuanto al 2,3-DPG es realmente significativa ($p < 0.001$), lo que está en concordancia con la misma diferencia existente en lo que respecta a la Hb y el Hcto. En la tabla 9 se indican las correlaciones existentes en este grupo de enfermos anémicos entre el 2,3-DPG (tanto expresados los resultados en forma mM como en $\mu\text{moles/g Hb}$) y el resto de los parámetros hemáticos estudiados. En ella se aprecia una significativa correlación del fosfoglicerato ($p < 0.001$) tanto con la Hb como con el Hcto. En la figura 6 se representa gráficamente la relación entre la Hb (g %) y el 2,3-DPG (mM) en estos pacientes. La recta de regresión viene definida por la ecuación: $\text{DPG (mM)} = -0.34 \text{ Hb (g \%)} + 9.2$. En la figura 21 se observa esta misma relación integrada en el conjunto de los 259 casos estudiados.

D. ENFERMEDADES TIROIDEAS

Vamos a referirnos sucesivamente a los resultados obtenidos del estudio de los tres grupos de enfermedades tiroideas: eu-hiper-e hipotiroidismos, para analizar finalmente las correlaciones del 2,3-DPG con los otros parámetros determinados en estos tres grupos, considerándolos en conjunto.

I. Eutiroidismos (Grupo E)

Los resultados individuales encontrados en cada uno de los 52 estudios, en los 6 hombres y 32 mujeres, de este grupo se exponen en la tabla 10. En la tabla 11 se resumen estos hallazgos en la forma acostumbrada de número de casos, rango, media y desviación standard. Lógicamente, las concentraciones de hormonas tiroideas circulantes se encuentran dentro de los límites de la normalidad. Por el contrario, algunos de los enfermos de este grupo tienen unas tasas de Hb y

Tabla 6: Hallazgos en enfermos con anemia simple.

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μ mol/g Hb)
1. TPP	23	F	11.3	37	30.5	5.82	19.08
2. EOG	44	F	9.3	33	35.4	5.59	19.84
3. TPT	35	F	9.9	31	31.9	7.37	23.10
4. EFP	41	F	10.5	26	40.3	6.86	16.99
5. FVC	51	F	10.6	34	31.1	5.82	18.69
6. TPT	35	F	7.0	17	41.1	7.52	18.26
7. IGG	39	F	12.2	37	32.9	5.92	17.96
8. CSN	40	F	11.5	38	30.2	4.55	15.06
9. MGG	83	F	7.4	26	28.4	9.25	32.53
10. EFS	73	F	10.0	32	31.2	7.00	22.40
11. VRG	78	F	6.1	25	24.4	7.42	30.43
12. MDV	33	F	7.6	28	27.1	6.67	24.58
13. RSD	65	M	10.2	36	28.3	6.67	23.55
14. NLG	68	F	12.0	36	33.3	5.49	16.49
15. CPF	27	F	11.7	35	33.4	5.17	15.46
16. LVV	40	F	11.0	33	33.3	5.49	16.49
17. DBC	3	M	11.7	35	32.9	5.35	16.02
18. JSS	33	M	10.9	33	33.0	5.59	16.93
19. JAG	1	M	11.2	35	32.0	5.35	16.74
20. LAL	42	F	9.1	32	28.4	4.68	19.99
21. PNE	14	F	4.9	20	24.5	7.05	28.77
22. DMA	13	M	10.4	33	31.5	4.98	15.80
23. MMA	6	F	9.4	33	28.4	5.87	20.62
24. PMA	5	F	9.4	31	30.3	4.79	15.81
25. SZF	47	F	11.0	37	29.7	4.37	14.70
26. JCM	55	M	10.1	38	26.5	6.39	24.04
27. BMM	42	F	9.1	32	28.4	6.29	22.14
28. ADG	40	F	10.4	35	29.7	5.12	17.24
29. CMN	30	M	7.6	26	29.2	5.64	19.29
30. RSL	35	F	9.8	33	29.6	6.20	20.89
31. ISG	40	F	11.7	38	30.7	4.60	14.95
32. PFM	23	F	9.4	33	28.4	5.45	19.14

Tabla 6 (Continuación)

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μ mol/g Hb)
33. VGO	25	F	11.0	36	30.5	5.59	18.30
34. SRP	6	F	12.0	38	31.5	4.70	14.88
35. CAR	20	F	11.5	37	31.0	6.11	19.65
36. FMG	60	M	11.7	40	29.2	4.88	16.71
37. ABT	30	F	11.0	31	35.4	5.45	15.36
38. APF	28	F	8.4	30	28.0	4.84	17.28
39. AGL	60	F	11.0	36	30.5	4.46	14.61
40. JFA	60	M	11.9	41	29.0	5.26	18.13

Tabla 7: Resultados en el grupo de enfermos con anemia simple (Grupo A).

Grupo A (M = 9; F = 31)	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μ mol/g Hb)
n	40	40	40	40	40	40
Rango	1 – 83	4.9 – 12.2	17 – 38	24.4 – 41.1	4.37 – 9.25	14.61 – 32.53
\bar{x}	37.32	10.07	32.92	30.77	5.79	19.22
SD	20.78	1.72	5.10	3.37	1.02	4.27

Tabla 8: Comparación estadística entre el grupo A (anemia) y el N (controles normales).

Anemia versus Normales	n	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μ mol/g Hb)
Grupo A	40	37.3 \pm 20.7	10.07 \pm 1.72	32.92 \pm 5.10	30.77 \pm 3.37	5.79 \pm 1.02	19.22 \pm 4.27
Grupo N	120	28.0 \pm 15.6	14.29 \pm 1.61	43.74 \pm 4.20	32.64 \pm 1.89	4.54 \pm 0.57	13.98 \pm 2.05
Significación		p < 0.02	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001

Tabla 9: Grupo A: Correlación del 2,3-DPG con el resto de los parámetros estudiados.

y = 2,3-DPG (mM)		n	r	a	b	y = ax + b	p
x =	Edad (años)	40	0.3617	0.017	5.1	DPG = 0,017 E + 5,1	< 0.05
	Hb (g ‰)	40	-0.5806	-0.34	9.2	DPG = -0.34 Hb + 9.2	< 0.001
	Hcto (‰)	40	-0.6174	-0.12	9.8	DPG = -0.12 Hcto + 9.8	< 0.001
	CHCM (‰)	40	-0.0144	-0.004	5.9	DPG = -0.004 CHCM + 5.9	NS

y = 2,3-DPG (µmol/g Hb)		n	r	a	b	y = ax + b	p
x =	Edad (años)	40	0.3946	0.081	16.1	DPG = 0.081 E + 16.1	< 0.01
	Hb (g ‰)	40	-0.7262	-1.79	37.3	DPG = -1.79 Hb + 37.3	< 0.001
	Hcto (‰)	40	-0.4945	-0.414	32.8	DPG = -0.414 Hcto + 32.8	< 0.001
	CHCM (‰)	40	-0.5173	-0.655	39.3	DPG = -0.655 CHCM + 39.3	< 0.001

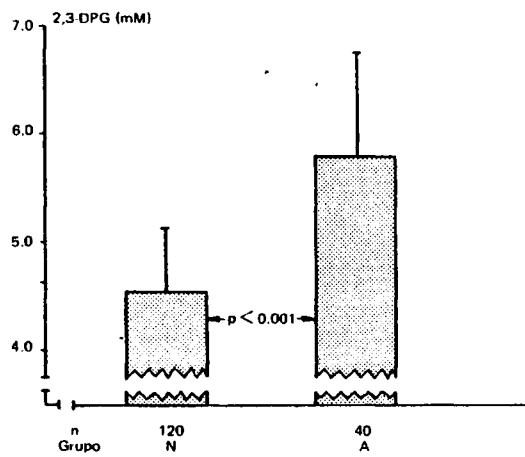


Fig. 5. Niveles de 2,3-DPG en 40 enfermos anémicos (Grupo A) de diverso origen (M = 9; F = 31) comparados con el grupo de sujetos control (Grupo N). Signos y abreviaturas como en la figura 3.

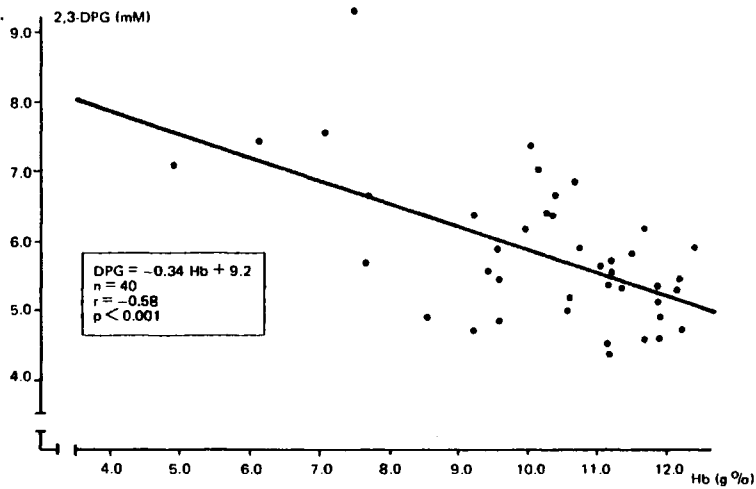


Fig. 6. Correlación entre la Hb y el 2,3-DPG eritrocitario en 40 enfermos con anemia. En recuadro se indican los mismos datos que en la figura 2.

Tabla 10: Hallazgos en enfermos tiroideos con normofunción glandular.

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	CO ₂ H ⁻ (mEq/l)	T ₃ (ng %)	T ₄ (μg %)	TSH (ng/ml)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
1. AVC	54	F	14.2	41	34.6	2.9	114	17	4.6	30	121	7.3	0.65	4.41	12.75
2. CTM	55	F	13.2	42	31.4	4.9	117	34	4.7	29	160	6.0	0.90	5.26	16.74
3. DCS	38	F	13.5	44	30.6	3.2	100	12	3.4	—	121	8.0	1.70	4.70	15.31
4. VGA	51	F	14.0	40	35.0	2.7	92	13	3.8	25	152	12.8	0.83	4.98	14.23
5. AMR	66	F	12.7	35	36.2	3.3	93	16	3.7	28	163	11.3	0.57	4.65	12.82
6. CFG	55	F	15.2	44	34.5	2.9	110	18	4.3	25	120	9.7	1.21	5.35	15.51
7. AGS	50	F	13.7	40	34.2	3.1	94	16	4.3	29	149	8.8	—	5.02	14.68
8. AGC	76	F	13.4	40	33.5	3.4	122	21	4.2	30	112	7.9	0.69	5.45	16.27
9. JVE	64	F	14.6	40	36.5	3.5	105	23	3.9	21	113	12.9	0.80	5.64	15.45
10. FMP	51	F	15.1	48	31.4	3.5	104	20	4.1	23	120	9.6	1.02	4.51	14.34
11. ERA	69	F	13.3	42	31.6	2.7	251	10	3.9	20	124	10.0	0.50	5.87	18.55
12. AGS	51	F	12.7	39	32.5	3.4	104	22	4.8	22	128	6.9	0.76	5.54	17.03
13. VAC	46	M	14.8	46	32.1	2.5	98	13	3.9	25	192	9.8	0.50	5.21	16.21
14. VVC	46	F	15.0	39	38.4	4.3	112	18	4.3	21	173	12.5	0.40	5.17	13.44
15. IGG	38	F	13.0	37	35.1	3.0	95	11	3.8	26	151	9.3	0.67	5.26	14.98
16. EFL	35	F	13.1	37	35.4	3.0	100	18	4.1	29	165	8.6	0.50	4.70	13.27
17. CTM	56	F	14.1	42	33.5	—	109	23	4.1	30	126	8.2	1.12	5.12	16.23
18. REB	18	F	13.4	41	32.6	4.0	89	14	3.9	21	124	7.2	0.50	4.32	13.23
19. MMZ	65	F	13.9	43	32.3	4.0	125	27	4.6	23	190	10.0	2.65	4.13	12.79
20. FMP	52	F	14.1	44	32.0	2.9	99	17	4.7	—	141	10.2	0.60	5.26	16.42
21. MAA	64	F	14.7	41	35.8	3.5	145	31	4.1	32	112	8.5	0.55	5.12	14.28
22. AVC	47	M	14.4	39	36.9	3.8	120	21	4.1	31	141	8.5	0.71	5.26	14.25
23. VVC	47	F	13.3	39	34.1	3.8	112	17	4.3	27	137	11.0	0.60	5.45	15.98
24. PBV	81	F	15.8	46	34.3	3.5	149	40	4.0	—	133	9.2	—	5.02	14.64

Tabla 10 (Continuación)

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	CO ₂ H (mEq/l)	T ₁ (ng %)	T ₄ (μg %)	TSH (ng/ml)	2,3-DPG (mM)	(μmol/g Hb)
25. FVC	51	F	12.6	40	31.5	3.3	118	18	4.6	28	173	9.3	0.50	5.40	17.15
26. ARS	68	M	16.1	49	32.8	5.2	104	14	—	—	116	9.6	0.60	5.45	16.59
27. MTA	32	F	15.4	44	35.0	3.7	92	15	4.1	22	162	11.6	0.74	5.21	14.90
28. MMZ	66	F	13.9	41	33.9	3.7	134	35	4.3	30	160	9.5	1.30	4.23	12.47
29. AHP	20	F	13.7	42	32.6	3.3	95	13	4.4	—	120	9.3	0.75	5.49	16.85
30. FMP	52	F	14.8	44	33.6	3.6	101	24	4.4	27	94	7.8	1.52	5.21	15.51
31. JSN	55	F	15.1	44	34.3	3.7	97	18	4.1	—	94	8.5	0.40	5.12	14.92
32. PMR	30	F	13.9	45	30.8	3.5	98	12	4.4	23	181	11.7	0.35	4.93	15.97
33. PMM	53	M	16.9	47	35.9	2.7	96	20	—	—	193	13.0	0.21	4.32	12.02
34. TSL	55	F	13.8	46	30.0	3.7	116	17	4.7	26	125	6.2	—	4.60	15.35
35. JMS	49	M	15.0	45	33.3	3.2	91	19	—	—	187	10.0	0.50	4.65	13.95
36. AGS	49	F	13.0	40	32.5	2.9	97	19	—	—	110	6.0	1.00	4.84	14.89
37. AAC	44	F	13.0	43	30.2	2.7	—	—	—	—	140	7.8	—	4.41	14.61
38. AMN	44	F	14.4	41	35.1	3.3	103	11	—	—	150	7.3	—	4.79	13.64
39. JLL	24	F	13.3	44	31.3	—	—	—	—	—	138	7.0	0.57	4.93	15.73
40. AGS	50	F	12.3	38	32.3	3.5	88	17	—	—	140	8.9	1.05	4.13	12.77
41. IGG	38	F	11.9	37	32.1	—	—	—	—	—	138	9.8	1.10	5.17	16.07
42. JBI	54	F	12.3	36	34.1	3.6	86	18	—	—	113	9.8	—	4.51	13.20
43. EOG	44	F	9.3	33	35.4	2.5	86	11	—	—	119	6.1	1.10	5.59	19.84
44. EFM	45	F	12.1	35	34.5	3.1	101	12	—	—	128	6.7	3.37	4.41	12.77
45. AGS	51	F	13.3	39	34.1	2.9	99	15	4.1	29	153	10.1	0.70	5.73	16.81
46. BNS	63	F	13.3	40	33.2	3.1	113	18	—	—	175	10.1	0.51	5.59	16.82
47. CRV	33	F	13.0	42	30.9	3.3	107	15	—	—	176	10.2	0.50	5.35	17.31
48. EGA	20	M	18.4	56	32.8	3.8	113	15	—	—	151	8.3	0.61	4.41	13.44
49. AMM	64	F	17.9	56	31.9	—	—	—	—	—	155	12.2	—	5.26	16.46
50. EFL	35	F	14.1	42	33.5	—	—	—	—	—	191	8.9	0.50	4.70	14.00
51. TMB	61	F	14.2	45	31.5	4.0	105	16	4.6	31	196	12.0	1.91	6.39	20.25
52. IGG	39	F	12.3	38	32.3	—	—	—	—	—	131	9.7	0.69	4.98	15.39

Tabla 11: Resultados en el grupo de enfermos eutiroideos (Grupo E).

Grupo E	Edad	Hb	Hcto	CHCM	P	G	BUN	K ⁺	CO ₃ H ⁻	T ₃	T ₄	TSH	2,3-DPG	
n = 52	(años)	(g %)	(%)	(%)	(mg %)	(mg %)	(mg %)	(mEq/l)	(mEq/l)	(ng %)	(μg %)	(ng/ml)	(mM)	(μmol/g Hb)
n	52	52	52	52	46	46	46	34	29	52	52	45	52	52
Rango	18-81	9.3-18.4	33-56	30.0-38.5	2.5-5.2	86-251	10-40	3.4-4.8	21-32	94-196	6.0-13.0	0.21-3.37	4.13-6.39	12.02-20.25
\bar{x}	49.30	13.94	41.94	33.38	3.39	108.67	18.34	4.21	26.37	143	9.26	0.86	5.02	15.17
SD	13.86	1.49	4.44	1.84	0.55	25.60	6.46	0.33	3.54	27	1.84	0.59	0.48	1.80

Hcto descendidas, con unos límites inferiores de 9.3 g % y 33 % respectivamente; a pesar de ello, los niveles medios para el grupo son normales (13.94 ± 1.49 g % para la Hb y 41.94 ± 4.44 % para el Hcto), lo que no es óbice para que, al realizar una comparación estadística entre este grupo E y el de los 120 controles normales, se encuentre una diferencia significativa para el Hcto y la CHCM ($p < 0.02$) (tabla 14). Las concentraciones de 2,3-DPG eritrocitario en el grupo E han oscilado entre 4.13 y 6.39 mM con un valor medio de 5.02 ± 0.48 mM (tabla 11). Las concentraciones más altas han coincidido con los Hctos y Hbs más bajos, es decir, el 2,3-DPG se ha elevado en aquellos casos que presentaban anemia (Fig. 21). No es de extrañar por ello que el valor medio del fosfoglicerato para el grupo se encuentre en el límite superior de la normalidad y que difiera de forma notable ($p < 0.001$) de la concentración media propia de los 120 controles normales o de las 60 mujeres sanas (tabla 14 y figura 7). El grado de anemia, sin embargo, no es tan intenso como en el grupo A, de enfermos específicamente con déficit de masa eritrocítica, y que tienen por ello unas tasas de Hb y Hcto significativamente menores ($p < 0.001$) y de 2,3-DPG eritrocitario claramente superior ($p < 0.001$) que las de estos enfermos eutiroideos (tabla 19). Sus niveles medios de P, G, BUN, K^+ y CO_3H^- se encuentran dentro de los límites estimados como normales para el laboratorio del Hospital.

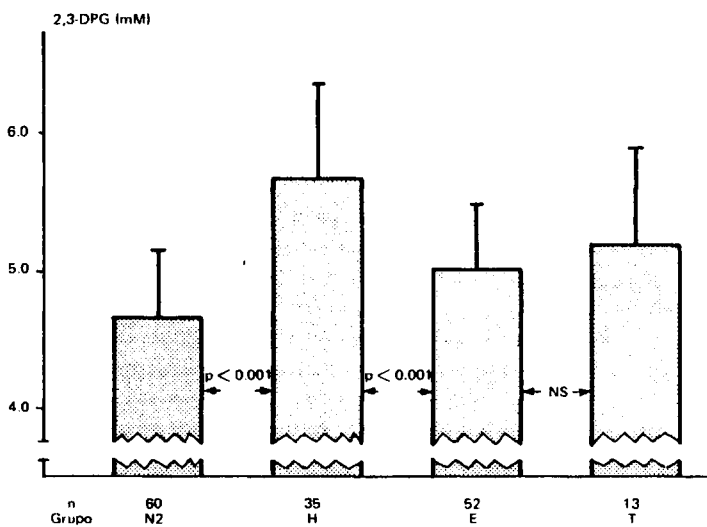


Fig. 7. Niveles de 2,3-DPG encontrados en enfermos hipertiroideos (Grupo H), eutiroideos (Grupo E) e hipotiroideos (Grupo T), comparados con el grupo de mujeres sanas control (Grupo N2). Signos y abreviaturas como en la figura 3.

II. Hipertiroidismos (Grupo H)

Los resultados objetivados para los distintos parámetros analizados en cada uno de los 35 estudios, en los 2 hombres y las 23 mujeres, de este grupo se relacionan en la tabla 12.

En la tabla 13 se resumen estos hallazgos con una disposición de datos igual a la expuesta en tablas similares de los grupos anteriores.

Las concentraciones de las hormonas tiroideas circulantes se encuentran, por definición, elevadas. (La normalidad para nuestro Hospital, como ya referíamos, se sitúa entre 100 y 210 ng % para la T₃ y entre 5 y 13 µg % para la T₄). Los niveles para la T₃ han oscilado entre 187 y 681 ng % con un valor medio de 328 ± 129 ng %. En la T₄ los límites extremos han sido 9.0 y 29.0 µg % con una tasa media de 16.32 ± 5.26 µg %. Estos niveles son claramente superiores (p < 0.001) a los del grupo E (tabla 14). La TSH, lógicamente, ha mostrado valores preferentemente bajos, bastantes veces de cero, con un nivel medio de 0.46 ± 0.34 ng/ml (tabla 13), que es inferior (p < 0.005) al objetivado para el grupo E (tabla 14).

Como sucedía a propósito de los enfermos eutiroideos, también en este conjunto de pacientes con hiperfunción glandular se encuentran algunos casos con Hb o Hcto descendidos, en general de forma muy poco importante (límite inferior de 11.4 g % y 34 % respectivamente), por lo que los niveles medios de estos parámetros para el grupo en su conjunto se sitúan dentro de la normalidad (13.75 ± 1.43 g % y 41.22 ± 4.77 % respectivamente) (tabla 13). Esto origina aquí, como en el grupo E, que al establecer las comparaciones estadísticas para ambos parámetros hemáticos entre este grupo de enfermos con hipertiroidismo (grupo H) y el de controles normales (grupo N) se encuentre una diferencia significativa para el Hcto (p < 0.005) y la CHCM (p < 0.05), que persiste sólo para la CHCM (p < 0.02) si comparamos con el grupo N2 (mujeres normales); la justificación para esta última comparación se basa en el hecho de que la inmensa mayoría de nuestros enfermos con hiperfunción tiroidea son mujeres. No hay diferencias estadísticas, por el contrario, en lo que se refiere a la Hb, el Hcto y la CHCM entre este grupo H y el E (tabla 14).

Los niveles de 2,3-DPG eritrocitario que hemos encontrado en los enfermos hipertiroides han variado entre 4.70 y 7.61 mM (13.05 y 23.52 µmoles/g Hb) con un valor medio de 5.66 ± 0.69 mM (16.95 ± 2.18 µmoles/g Hb) (tabla 13). Estos valores son claramente superiores (p < 0.001) a los de los controles normales (tanto del grupo N como del grupo N2) y a los de los enfermos eutiroideos (tabla 14 y figura 7). Las concentraciones medias en sangre de P, G, BUN, K⁺ y CO₃H⁻ se encuentran dentro de la normalidad para este grupo H de enfermos con hiperfunción tiroidea (tabla 13).

En 15 hipertiroidismos hemos tenido la oportunidad de seguir la evolución de la enfermedad a lo largo de varios meses hasta que el tratamiento médico o, menos frecuentemente quirúrgico, consiguió la normalización funcional de la glándula, momento en el que repetimos nuevamente

Tabla 12: Hallazgos en enfermos con hipertiroidismo.

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	T ₃ (ng %)	T ₄ (μg %)	TSH (ng/ml)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
1. AGS	49	F	12.0	34	35.2	4.0	97	17	—	—	495	19.0	1.00	5.92	16.77
2. AMS	45	F	12.5	37	33.7	3.3	95	17	—	—	187	17.2	0.80	4.70	13.91
3. CTM	55	F	13.5	40	33.7	4.1	117	19	—	—	542	19.0	0.63	5.92	16.77
4. JLL	24	F	13.0	43	30.2	—	—	—	—	—	224	10.0	0.00	5.02	16.63
5. FVC	50	F	12.5	37	33.7	3.8	113	13	—	—	308	13.0	—	5.73	16.97
6. DCS	38	F	14.3	43	33.2	3.6	87	14	4.3	—	300	29.0	0.30	6.11	18.37
7. FMP	50	F	14.0	36	38.8	3.6	101	19	—	—	225	12.5	0.30	5.07	13.05
8. FVC	51	F	12.4	35	35.4	3.7	128	16	5.1	—	593	16.0	0.40	6.53	18.43
9. MMZ	64	F	14.0	43	32.5	3.4	121	25	4.3	30	230	13.8	1.44	4.70	14.43
10. IGG	38	F	13.8	40	34.5	3.5	112	13	4.0	21	210	9.0	0.67	5.78	16.75
11. EOG	44	F	12.9	40	32.2	2.4	107	17	4.4	24	534	29.0	0.00	6.20	19.23
12. FVC	51	F	11.4	34	33.5	3.0	131	16	4.5	—	261	10.0	0.42	6.72	20.04
13. CDF	29	F	13.1	36	36.3	3.5	91	13	4.0	19	223	12.2	0.67	5.49	15.11
14. IGG	58	F	15.0	47	31.9	3.9	109	16	4.7	17	249	15.8	0.00	6.76	21.20
15. MMZ	64	F	13.7	42	32.6	3.5	122	26	4.0	22	228	12.7	1.02	4.70	14.40
16. CMC	61	F	14.5	43	33.7	3.3	109	14	—	—	249	14.9	—	5.35	15.88
17. EOG	44	F	12.3	36	34.1	3.0	102	13	4.5	26	338	21.7	0.00	5.87	17.19
18. CMC	61	F	14.5	41	35.3	3.1	108	15	—	—	305	13.0	0.90	5.45	15.41
19. LOG	67	F	12.9	41	31.4	2.7	123	20	3.9	26	399	24.0	0.00	6.20	19.71
20. ARC	37	F	14.3	36	39.7	3.4	117	14	—	—	490	20.0	—	5.87	14.79
21. LOG	67	F	12.9	34	37.9	3.1	110	15	4.0	—	210	13.5	0.00	6.72	17.71
22. EOG	45	F	12.3	40	30.7	2.1	103	15	—	—	328	15.0	—	5.26	17.11
23. LRG	22	F	15.1	43	35.1	2.9	122	10	3.9	23	470	18.1	0.55	5.35	15.25
24. IGG	61	F	16.5	47	35.1	3.2	107	14	—	—	250	10.1	0.50	5.49	15.66

Tabla 12 (Continuación)

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	T ₃ (ng %)	T ₄ (μg %)	TSH (ng/ml)	2,3 DPG (mM)	2,3 DPG (μmol/g Hb)
25. AMM	64	F	17.7	54	32.7	3.5	120	27	4.3	—	270	16.2	0.70	5.31	16.20
26. VAC	46	F	14.3	47	30.4	3.0	114	24	3.9	26	251	9.5	0.30	6.11	20.08
27. RMG	27	F	12.3	38	32.3	3.7	70	15	4.1	—	474	18.0	0.30	7.61	23.52
28. IGG	61	F	15.2	48	31.6	2.9	116	14	—	—	192	14.0	0.50	5.45	17.21
29. JCP	37	M	15.9	48	33.1	—	—	—	—	—	215	11.1	0.42	4.98	15.04
30. RMA	26	F	16.2	46	35.2	—	—	—	—	—	364	13.6	0.40	6.53	18.55
31. TSL	55	F	14.2	44	32.2	3.6	124	23	—	—	330	16.9	0.40	5.31	16.45
32. PMM	53	M	13.5	42	32.1	4.2	114	20	—	—	681	19.4	0.22	5.45	16.96
33. CMP	63	F	13.7	41	33.4	4.5	99	14	—	—	245	25.0	0.60	5.02	15.05
34. PMM	53	M	13.4	45	29.7	—	—	—	—	—	389	22.7	—	4.88	16.41
35. AHP	18	F	11.5	42	27.3	—	—	—	—	—	240	—	0.55	4.70	17.16

Tabla 13: Resultados en el grupo de enfermos con hipertiroidismo (Grupo H)

Grupo H	Edad	Hb	Hcto	CHCM	P	G	BUN	K ⁺	CO ₃ H ⁻	T ₃	T ₄	TSH	2,3-DPG	2,3-DPG
n = 35	(años)	(g %)	(%)	(%)	(mg %)	(mg %)	(mg %)	(mEq/l)	(mEq/l)	(ng %)	(μg %)	(ng/ml)	(mM)	(μmol/g Hb)
n	35	35	35	35	30	30	30	16	10	35	34	30	35	35
Rango	18-67	11.4-17.7	34-54	27.3-39.7	2.1-4.5	70-131	10-27	3.9-5.1	17-30	187-681	9.0-29.0	0.00-1.44	4.70-7.61	13.05-23.52
\bar{x}	47.94	13.75	41.22	33.44	3.38	109.63	16.60	4.24	23.40	328	16.32	0.46	5.66	16.95
SD	13.93	1.43	4.77	2.50	0.52	13.17	3.97	0.33	3.83	129	5.26	0.34	0.69	2.18

Tabla 14: Comparación estadística entre los grupos H (hipertiroidismo), E (eutiroidismo), N (controles normales) y N2 (controles normales de sexo femenino).

Hipertiroidis- mos versus Eutiroidismos y Normales	n	Edad	Hb	Hcto	CHCM	P	T ₃	T ₄	TSH	2,3-DPG	
		(años)	(g %)	(%)	(%)	(mg %)	(ng %)	(μg %)	(ng/ml)	(mM)	(μmol/g Hb)
Grupo H	35	47.9 ± 13.9	13.75 ± 1.43	41.22 ± 4.77	33.44 ± 2.50	3.38 ± 0.52	328 ± 129	16.32 ± 5.26	0.46 ± 0.34	5.66 ± 0.69	16.95 ± 2.18
Grupo E	52	49.3 ± 13.8	13.94 ± 1.49	41.94 ± 4.44	33.38 ± 1.84	3.39 ± 0.55	143 ± 27	9.26 ± 1.84	0.86 ± 0.59	5.02 ± 0.48	15.17 ± 1.80
Grupo N	120	28.0 ± 15.6	14.29 ± 1.61	43.74 ± 4.20	32.64 ± 1.89	-	-	-	-	4.54 ± 0.57	13.98 ± 2.05
Grupo N2	60	27.6 ± 14.8	13.51 ± 1.05	41.76 ± 2.41	32.33 ± 1.70	-	-	-	-	4.60 ± 0.57	14.29 ± 2.03
Significa- cion de	H VS E	NS	NS	NS	NS	NS	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.005	p < 0.001	p < 0.001
las dife- rencias	H VS N	p < 0.001	NS	p < 0.005	p < 0.05	-	-	-	-	p < 0.001	p < 0.001
	H VS N2	p < 0.001	NS	NS	p < 0.02	-	-	-	-	p < 0.001	p < 0.001
	E VS N	p < 0.001	NS	p < 0.02	p < 0.02	-	-	-	-	p < 0.001	p < 0.001

nuestro protocolo de estudio. Los resultados obtenidos en cada uno de estos 15 casos para los distintos parámetros analizados antes y después de la mencionada terapéutica se exponen en la tabla 15.

En la tabla 16 y en la figura 8 se muestran estas variaciones analíticas y su significación estadística bajo la forma de media aritmética y desviación standard al considerar a estos 15 casos como un grupo homogéneo. Es evidente que, mientras que las tasas medias de Hb, Hcto, CHCM, P, G, BUN y K^+ no sufren ninguna modificación a lo largo del tratamiento de la enfermedad, la concentración intraeritrocitaria de 2,3-DPG experimenta un descenso considerable. En efecto, desde unos valores medios iniciales anteriores al tratamiento de 5.85 ± 0.75 mM (17.63 ± 2.58 μ moles/g Hb) disminuye, coincidiendo con la normalización funcional tiroidea, a unos niveles medios de 5.10 ± 0.65 mM (15.74 ± 1.78 μ moles/g Hb); esta disminución es, en el orden estadístico, muy significativa ($p < 0.01$). Lógicamente la caída en las tasas de hormonas tiroideas circulantes, T_3 y T_4 , es también altamente significativa ($p < 0.001$).

III. Hipotiroidismos (Grupo T)

Los resultados encontrados en el estudio de cada uno de los 13 enfermos de este grupo se exponen en la tabla 17 y se resumen, en la forma ya acostumbrada, en la 18.

Lógicamente, los niveles de T_3 y T_4 séricas se encuentran claramente disminuidos, con una oscilación entre 0 y 110 ng % y 0 y 6.2 μ g % para la T_3 y la T_4 respectivamente; los valores medios se sitúan en 65 ± 37 ng % y 2.91 ± 2.33 μ g % para ambas hormonas tiroideas, también respectivamente. Estos valores difieren ($p < 0.001$), como era de esperar, de los encontrados en el grupo E de enfermos eutiroideos (tabla 19). La TSH circulante ha mostrado una clara tendencia a tasas francamente elevadas, entre 0.52 y 14.40 ng/ml, con un valor medio de 7.06 ± 5.22 ng/ml, que es sensiblemente superior ($p < 0.001$) al propio de los pacientes del grupo E (tablas 18 y 19).

Las tasas de Hb y Hcto en el grupo T de pacientes hipotiroideos han oscilado ampliamente. Junto a cifras de 9.0 g % y 28 % hemos encontrado otras de 16.0 g % y 44 % para ambos parámetros hemáticos respectivamente; los valores medios (12.50 ± 2.03 g % para la Hb y 37.30 ± 4.64 % para el Hcto) muestran una clara tendencia a cifras por debajo de la media de la población femenina española normal (grupo N2) e incluso por debajo del grupo E de enfermos eutiroideos, algunos de los cuales estaban anémicos, por lo que no es de extrañar que, desde el punto de vista estadístico, los índices de Hb y Hcto del grupo T sean significativamente más bajos que los de los grupos N2 y E (tablas 18 y 19).

Las concentraciones eritrocitarias del 2,3-DPG en los pacientes con hipofunción tiroidea han variado también de forma considerable, entre 4.08 y 6.72 mM (11.63 y 20.90 μ moles/g Hb). Es

Tabla 15: Hallazgos en enfermos con hipertiroidismo antes y después del tratamiento antitiroideo.

n = 7	AGS (F; 49 años)		CTM (F; 55 años)		JLL (F; 24 años)		FVC (F; 51 años)		DCS (F; 38 años)		FMP (F; 50 años)		MMZ (F; 64 años)	
	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.
	Hb (g %)	12.0	13.0	13.5	13.2	13.0	13.8	12.4	12.6	14.3	13.5	14.0	15.1	14.0
Hcto (%)	34	40	40	42	43	44	35	40	43	44	36	48	43	43
CHCM (%)	35.2	32.5	33.7	31.4	30.2	31.3	35.4	31.5	33.2	30.6	38.8	31.4	32.5	32.3
P (mg %)	4.0	2.9	4.1	4.9	—	—	3.7	3.3	3.6	3.2	3.6	3.5	3.4	4.0
G (mg %)	97	97	117	117	—	—	128	118	87	100	101	104	121	125
BUN (mg %)	17	19	19	34	—	—	16	18	14	12	19	20	25	27
K ⁺ (mEq/l)	—	—	—	4.7	—	—	5.1	4.6	4.3	3.4	—	4.1	4.3	4.6
T ₃ (ng %)	495	110	542	160	224	138	593	173	300	121	225	120	230	190
T ₄ (μg %)	19.0	6.0	19.0	6.0	10.0	7.0	16.0	9.3	29.0	8.0	12.5	9.6	13.8	10.0
TSH (ng/ml)	1.00	1.00	0.63	0.90	0.00	0.57	0.40	0.50	0.30	1.70	0.30	1.02	1.44	2.65
2,3-DPG (mM)	5.92	4.84	5.92	5.26	5.02	4.93	6.53	5.40	6.11	4.70	5.07	4.51	4.70	4.13
2,3-DPG (μmol/g Hb)	16.77	14.89	16.77	16.74	16.63	15.73	18.43	17.15	18.37	15.31	13.05	14.34	14.43	12.79

Tabla 15 (Continuación)

n = 8	IGG (F; 38 años)		EOG (F; 44 años)		IGG (F; 58 años)		LOG (F; 67 años)		AMM (F; 64 años)		RMG (F; 27 años)		TSL (F; 55 años)		PMM (M; 53 años)	
	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.
	Hb (g %)	13.8	13.0	12.9	12.3	15.0	15.2	12.9	12.9	17.7	17.9	12.3	12.3	14.2	13.8	13.5
Hcto (%)	40	37	40	40	47	48	41	34	54	56	38	38	44	46	42	47
CHCM (%)	34.5	35.1	32.2	30.7	31.9	31.6	31.4	37.9	32.7	31.9	32.3	32.3	32.2	30.0	32.1	35.9
P (mg %)	3.5	3.0	2.4	2.1	3.9	2.9	2.7	3.1	3.5	—	3.7	4.0	3.6	3.7	4.2	2.7
G (mg %)	112	96	107	103	109	116	123	110	120	—	70	97	124	116	114	96
BUN (mg %)	13	11	17	15	16	14	20	15	27	—	15	18	23	17	20	20
K ⁺ (mEq/l)	4.0	3.8	4.4	—	4.7	—	3.9	4.0	4.3	—	4.1	3.9	—	4.7	—	—
T ₃ (ng %)	210	151	534	328	249	192	399	210	270	155	474	154	330	126	681	193
T ₄ (μg %)	9.0	9.3	29.0	15.0	15.8	14.0	24.0	13.5	16.2	12.2	18.0	9.4	16.9	6.2	19.4	13.0
TSH (ng/ml)	0.67	0.67	0.00	—	0.00	0.50	0.00	0.00	0.70	—	0.30	0.36	0.40	—	0.22	0.21
2,3-DPG (mM)	5.78	5.26	6.20	5.26	6.76	5.45	6.20	6.72	5.31	5.26	7.61	5.96	5.31	4.60	5.45	4.32
2,3-DPG (μmol/g Hb)	16.75	14.98	19.23	17.11	21.20	17.21	19.71	17.71	16.20	16.46	23.52	18.44	16.45	15.35	16.96	12.02

Tabla 16: Resultados en el grupo de enfermos con hipertiroidismo antes y después del tratamiento anti-tiroideo.

n = 15 pares	Pretratamiento	Posttratamiento	n	Significación
Hb (g %)	13.70 ± 1.38	13.96 ± 1.65	15	NS
Hcto (%)	41.33 ± 4.98	43.13 ± 5.44	15	NS
CHCM (%)	33.22 ± 2.08	32.42 ± 2.10	15	NS
P (mg %)	3.56 ± 0.51	3.33 ± 0.70	13	NS
G (mg %)	108.4 ± 16.4	107.2 ± 10.2	13	NS
BUN (mg %)	18.00 ± 3.46	18.46 ± 6.21	13	NS
K (mEq/l)	4.28 ± 0.43	4.05 ± 0.47	6	NS
T ₃ (ng %)	383.7 ± 157.2	168.0 ± 53.7	15	p < 0.001
T ₄ (μg %)	17.84 ± 5.90	9.89 ± 3.01	15	p < 0.001
TSH (ng/ml)	0.43 ± 0.43	0.84 ± 0.72	12	NS
2,3-DPG (mM)	5.85 ± 0.75	5.10 ± 0.65	15	p < 0.01
2,3-DPG (μ mol/g Hb)	17.63 ± 2.58	15.74 ± 1.78	15	p < 0.05

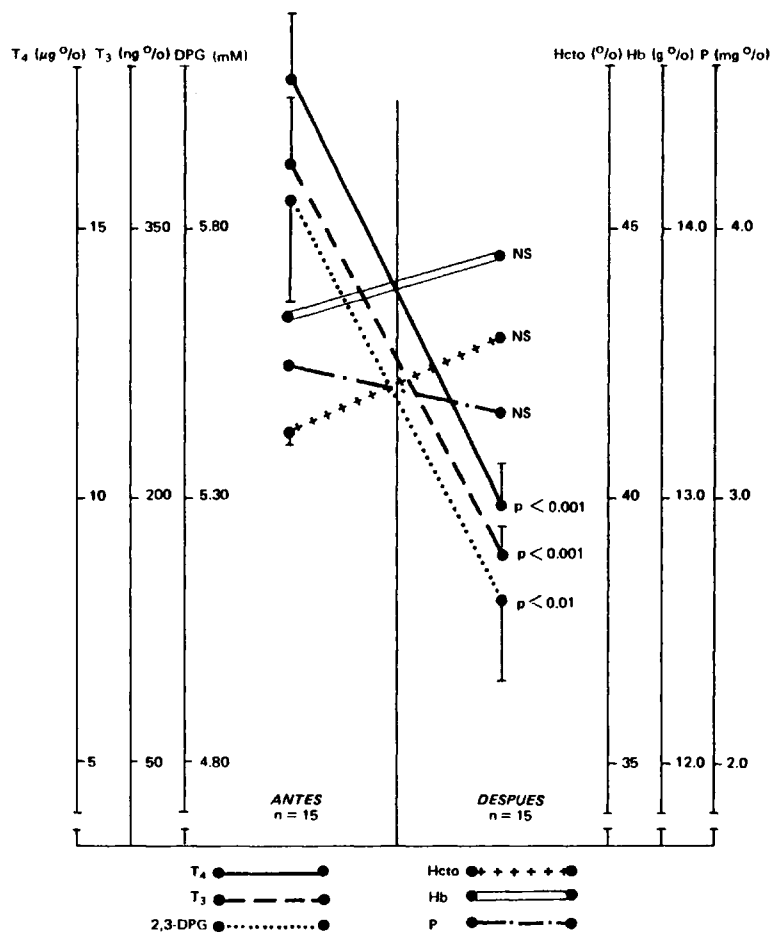


Fig. 8. Variaciones en las tasas de la Hb y el Hcto, en los niveles de fosfato sérico inorgánico (P), tiroxina (T₄) y triyodotironina (T₃) circulantes y en la concentración eritrocitaria de 2,3-DPG, antes y después del tratamiento, en enfermos con hipertiroidismo. Se indican los valores medios ± la SEM. Signos y abreviaturas como en la figura 3.

Tabla 17: Hallazgos en enfermos con hipotiroidismo. Con un asterisco se indican los casos con anemia.

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	T ₃ (ng %)	T ₄ (μg %)	TSH (ng/ml)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
1. AGS	49	F	12.8	37	34.5	2.9	46	2.5	0.63	4.98	14.40
2. MRM*	40	F	10.3	32	32.1	3.0	46	4.6	14.40	4.08	12.70
3. EFL	30	F	13.2	37	35.6	3.4	90	4.6	10.00	4.79	13.43
4. PER*	43	F	10.6	33	32.1	3.5	34	0.0	8.60	5.68	17.70
5. VMA*	73	F	11.2	36	31.1	2.8	0	0.0	-	5.49	17.67
6. VMD*	74	F	9.0	28	32.1	2.4	110	3.2	2.03	6.72	20.90
7. IDF	38	F	12.5	40	31.2	3.2	36	1.0	14.30	5.26	16.84
8. CPM	63	F	13.0	40	32.5	4.1	45	0.0	10.00	5.35	16.48
9. CDL	70	F	15.0	43	34.8	3.8	95	6.2	0.52	5.40	15.49
10. FMP	50	F	16.0	44	36.3	3.8	88	3.2	5.25	4.23	11.63
11. VFG	61	F	14.2	41	34.6	4.4	100	6.0	-	4.98	14.38
12. VMO*	55	F	10.6	34	31.7	4.2	30	1.1	10.00	5.59	17.60
13. VMT	73	F	13.9	40	34.7	3.3	125	5.5	2.00	5.49	15.82

Tabla 18: Resultados en el grupo de enfermos con hipotiroidismo (Grupo T).

Grupo T (n = 13)	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	T ₃ (ng %)	T ₄ (μg %)	TSH (ng/ml)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
n	13	13	13	13	13	13	13	11	13	13
Rango	30-74	9.0-16.0	28-44	31.1-36.3	2.4-4.4	0-110	0.0-6.2	0.52-14.40	4.08-6.72	11.63-20.90
\bar{x}	55.30	12.50	37.30	33.33	3.44	65	2.91	7.06	5.23	15.77
SD	14.93	2.03	4.64	1.78	0.59	37	2.33	5.22	0.66	2.49

Tabla 19: Comparación estadística entre los grupos T (hipotiroidismo), E (eutiroidismo), A (anemia) y N2 (controles normales del sexo femenino).

Hipotiroidismo versus Eutiroidismo, Anémicos y Normales	n	Edad	Hb	Hcto	CHCM	P	T ₃	T ₄	TSH	2,3-DPG	
		(años)	(g %)o	(%)o	(%)o	(mg %)o	(ng %)o	(μg %)o	(ng/ml)	(mM)	(μmol/g Hb)
Grupo T	13	55.3 ± 14.9	12.50 ± 2.03	37.30 ± 4.64	33.33 ± 1.78	3.44 ± 0.59	65 ± 37	2.91 ± 2.33	7.06 ± 5.22	5.23 ± 0.66	15.77 ± 2.49
Grupo T ₁ (con anemia)	5	57.0 ± 16.0	10.38 ± 0.83	32.60 ± 2.96	31.82 ± 0.43	3.18 ± 0.69	44 ± 40	1.78 ± 2.04	8.75 ± 5.12	5.51 ± 0.94	17.31 ± 2.93
Grupo T ₂ (sin anemia)	8	54.2 ± 15.2	13.82 ± 1.20	40.25 ± 2.49	34.27 ± 1.65	3.61 ± 0.49	78 ± 31	3.52 ± 2.33	6.10 ± 5.41	5.06 ± 0.41	14.80 ± 1.72
Grupo E	52	49.3 ± 13.8	13.94 ± 1.49	41.94 ± 4.44	33.38 ± 1.84	3.39 ± 0.54	143 ± 27	9.26 ± 1.84	0.86 ± 0.59	5.02 ± 0.48	15.17 ± 1.80
Grupo A	40	37.3 ± 2.07	10.07 ± 1.72	32.92 ± 5.10	30.70 ± 3.37	—	—	—	—	5.79 ± 1.02	19.22 ± 4.27
Grupo N2	60	27.6 ± 14.8	13.51 ± 1.05	41.76 ± 2.41	32 ± 1.70	—	—	—	—	4.60 ± 0.57	14.29 ± 2.03
Significación de la diferencia	T VS E	NS	p < 0.01	p < 0.005	NS	NS	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	NS	NS
	T VS N2	p < 0.001	p < 0.02	p < 0.001	NS	—	—	—	—	p < 0.001	p < 0.05
	T ₁ VS T ₂	NS	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.01	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	T ₂ VS N2	p < 0.001	NS	NS	p < 0.005	—	—	—	—	p < 0.05	NS
	T ₁ VS A	p < 0.05	NS	NS	NS	—	—	—	—	NS	NS
	E VS A	p < 0.005	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	—	—	—	—	p < 0.001	p < 0.001
T ₂ VS E	NS	NS	NS	NS	NS	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	NS	NS	

decir, que junto a cifras que se inscriben claramente dentro de los límites de la normalidad existen otras francamente elevadas. Los valores medios encontrados han sido de 5.23 ± 0.66 mM ó 15.77 ± 2.49 μ moles/g Hb (tabla 18), es decir, marcadamente superiores ($p < 0.001$) a los objetivos en el grupo N2 de mujeres normales, pero no diferentes estadísticamente de los propios del grupo E (tabla 19 y figura 7), particularidad ésta que será comentada más adelante. Los niveles medios de P (3.44 ± 0.59 mg %) han sido normales (tabla 18).

La existencia de enfermos con cifras de Hb o Hcto claramente disminuidas nos ha permitido distinguir dentro de los hipotiroidismos dos tipos de enfermos. En el primero de ellos (grupo T₁), formado por 5 casos, agrupamos aquellos enfermos en los que la Hb o el Hcto eran bajos, es decir, que podían ser catalogados como anémicos. En el segundo (grupo T₂), constituido por 8 pacientes, estos parámetros hemáticos se encontraban dentro de los límites normales y por ello podían, en principio, ser etiquetados como no anémicos. El grupo T₁ ha sido comparado estadísticamente con el grupo A (de anemias simples, de etiología ferropénica principalmente), con el que no se ha demostrado ninguna diferencia significativa en lo que respecta a la Hb, el Hcto, la CHCM o el 2,3-DPG. El grupo T₂ ha sido comparado con el grupo N2 (de mujeres normales) del que sólo difiere en la CHCM ($p < 0.005$) y mínimamente en el 2,3-DPG ($p < 0.05$). Finalmente, al establecer una comparación entre los grupos T₁ y T₂ se comprueba cómo ambos se diferencian, por definición, en cuanto a la Hb, el Hcto y la CHCM, pero no en cuanto al P, T₃, T₄, TSH y 2,3-DPG, a pesar de que los niveles medios para este metabolito son superiores en el primer grupo (5.51 ± 0.94 mM) a los que se observan en el segundo (5.06 ± 0.41 mM). Lógicamente no hay diferencias estadísticas entre los grupos T₂ y E al no haberlas ya entre los grupos T y E en lo que se refiere al 2,3-DPG, pero tampoco en cuanto a la Hb, el Hcto, la CHCM y el P (tabla 19).

IV. Correlación del 2,3-DPG intraeritrocitario con otros parámetros bioquímicos en las enfermedades tiroideas

En las tablas 20 y 21 se muestra el análisis del problema de la relación entre las dos variables, dependiente (el 2,3-DPG expresado en su concentración en la forma mM —tabla 20—, o en forma de μ moles/g Hb —tabla 21—) e independiente (sucesivamente el resto de los parámetros bioquímicos determinados), en el conjunto de los 76 casos de enfermedades tiroideas, estudiados en 100 ocasiones y considerados como un grupo único.

La significativa correlación que se demuestra entre el 2,3-DPG (mM) y el Hcto o entre el 2,3-DPG (μ moles/g Hb) y la Hb o la CHCM al considerar a los 76 enfermos tiroideos en conjunto desaparece al eliminar del estudio de correlación el grupo de pacientes con función normal del tiroides (para la relación del 2,3-DPG (mM) y el Hcto "r" pasa a ser de -0.18 y para la del 2,3-DPG (μ moles/g Hb) y la Hb "r" se transforma en -0.14 , coeficientes, ambos, sin significación estadística).

Tabla 20: Grupos H, E y T: Correlación del 2,3-DPG (mM) con el resto de los parámetros estudiados.

	y = 2,3-DPG (mM)	n	r	a	b	y = ax + b	P
x =	Edad (años)	100	0.0958	0.004	5.0	DPG = 0.004 E + 5	NS
	Hb (g %)	100	-0.1724	-0.07	6.2	DPG = -0.07 Hb + 6.2	NS
	Hcto (%)	100	-0.1968	-0.027	6.3	DPG = -0.027 Hcto + 6.3	< 0.05
	CHCM (%)	100	0.0656	0.02	4.5	DPG = 0.02 CHCM + 4.5	NS
	P (mg %)	89	-0.0425	-0.052	5.4	DPG = -0.052 P + 5.4	NS
	G (mg %)	76	0.088	0.002	5.0	DPG = 0.002 G + 5	NS
	BUN (mg %)	76	-0.2113	-0.024	5.7	DPG = -0.024 BUN + 5.7	NS
	K ⁺ (mEq/l)	50	0.1621	0.35	3.8	DPG = 0.35 K + 3.8	NS
	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	39	-0.2079	-0.033	6.1	DPG = -0.033 C + 6.1	NS
	T ₃ (ng %)	100	0.4404	0.0022	4.8	DPG = 0.0022 T ₃ + 4.8	< 0.001
	T ₄ (μg %)	99	0.3317	0.038	4.8	DPG = 0.038 T ₄ + 4.8	< 0.001
	TSH (ng/ml)	86	-0.1801	-0.043	5.3	DPG = -0.043 TSH + 5.3	NS

Tabla 21: Grupos H, E y T: Correlación del 2,3-DPG ($\mu\text{moles/g Hb}$) con el resto de los parámetros estudiados.

	y = 2,3 DPG ($\mu\text{mol/g Hb}$)	n	r	a	b	y = ax + b	P
x =	Edad (años)	100	0.0439	0.006	15.5	DPG = 0.006 E + 15.5	NS
	Hb (g %)	100	-0.2972	-0.403	21.3	DPG = -0.403 Hb + 21.3	< 0.01
	Hcto (%)	100	-0.0528	-0.025	16.9	DPG = -0.025 Hcto + 16.9	NS
	CHCM (%)	100	-0.3666	-0.384	28.7	DPG = -0.384 CHCM + 28.7	< 0.001
	P (mg %)	89	-0.1108	-0.463	17.4	DPG = -0.463 P + 17.4	NS
	G (mg %)	76	0.0933	0.009	14.8	DPG = 0.009 G + 14.8	NS
	BUN (mg %)	76	-0.1833	-0.071	17.1	DPG = -0.071 BUN + 17.1	NS
	K ⁺ (mEq/l)	50	0.2181	1.5	9.5	DPG = 1.5 K ⁺ + 9.5	NS
	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	39	-0.1748	-0.100	18.3	DPG = -0.1 C + 18.3	NS
	T ₃ (ng %)	100	0.3426	0.005	14.7	DPG = 0.005 T ₃ + 14.7	< 0.001
	T ₄ ($\mu\text{g %}$)	99	0.2441	0.094	14.8	DPG = 0.094 T ₄ + 14.8	< 0.05
	TSH (ng/ml)	86	-0.1163	-0.093	16.0	DPG = -0.093 TSH + 16	NS

Tampoco se demuestra correlación valorable entre el 2,3-DPG y cualquiera de los otros parámetros estudiados, a excepción de las hormonas tiroideas circulantes. En efecto, entre el 2,3-DPG (tanto mM como μ moles/g Hb) y la T_3 (ng %) o la T_4 (μ g %) se establece una fuerte y significativa correlación ($p < 0.001$) (Figs. 9 y 10); es digno de mención el hecho de que el coeficiente de correlación entre el 2,3-DPG (mM o μ moles/g Hb) y la T_3 ($r = 0.4404$ y $r = 0.3426$, respectivamente) es más elevado que entre el 2,3-DPG y la T_4 ($r = 0.3317$ y $r = 0.2441$ también respectivamente).

E. CIRROSIS HEPATICAS (GRUPO C)

Los resultados objetivados para los distintos parámetros analizados en cada uno de los 60 casos estudiados de este grupo se relacionan en la tabla 22. En los dos cuadros de la tabla 23 se resumen estos hallazgos con la disposición de datos ya habitual, con la particularidad, aquí, de que en el cuadro inferior de esta tabla se ha separado a los enfermos según su sexo (grupos C1 y C2 de 28 hombres y 32 mujeres respectivamente) a efectos de poder establecer después comparaciones con los controles normales del mismo sexo (grupos N1 y N2), mientras que en el cuadro superior se considera a los 60 pacientes de este grupo (grupo C) como un todo único.

Las tasas de Hb y Hcto en estos enfermos han oscilado ampliamente. En efecto, junto a cifras claramente disminuidas (6.5 g % para la Hb y 19 % para el Hcto) otras han sido francamente altas (17.3 g % y 53 % para ambos parámetros respectivamente). Sin embargo, los valores medios para el grupo (Hb: 11.80 ± 2.50 g % y Hcto: 35.85 ± 6.82 %) se encuentran por debajo de la media normal y son significativamente menores ($p < 0.001$) que los propios de nuestro grupo de 120 controles normales (tablas 23 y 25). Esta diferencia persiste inmodificada ($p < 0.001$), en cuanto a la comparación de medias de la Hb y del Hcto, si separamos a los enfermos según el sexo (grupos C1 y C2) y los comparamos con los controles normales de su mismo sexo (grupos N1 y N2) (tabla 25). Los grupos C1 y C2 entre sí también muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) en lo que respecta a estos parámetros hemáticos, en el sentido de que los hombres tienen unos niveles medios superiores a los de las mujeres con la enfermedad (tabla 23). Finalmente, y ya que individualmente el 50 % de nuestros enfermos presentan anemia (tabla 24) y que, como grupo único (grupo C), muestran un descenso en los niveles medios de la Hb y el Hcto (tabla 23), hemos establecido una comparación estadística con el grupo A de 40 enfermos con anemia simple. De ella se desprende que las cifras medias para los mencionados parámetros hemáticos en estos últimos enfermos son claramente inferiores ($p < 0.001$) a las de los primeros (tabla 25).

Del estudio del pH plasmático y de los gases respiratorios en sangre arterial en estos pacientes con cirrosis hepática (tabla 24) se desprende que la alcalosis (pH superior a 7.40) está presente en un 56.6 % de los casos y que es de naturaleza respiratoria en un 41.6 % de ellos, mientras que

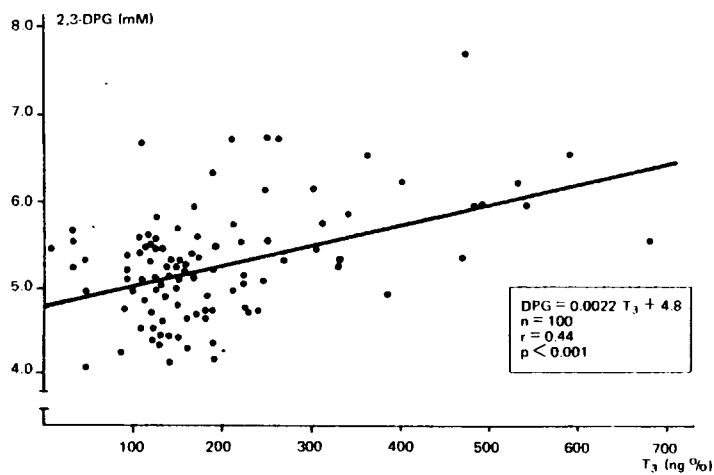


Fig. 9. Correlación entre los niveles eritrocitarios de 2,3-DPG y las concentraciones séricas de T_3 en 73 enfermos tiroideos (hiper-normo-e hipofuncionantes) estudiados en 100 ocasiones distintas. Datos en recuadro como en la figura 2.

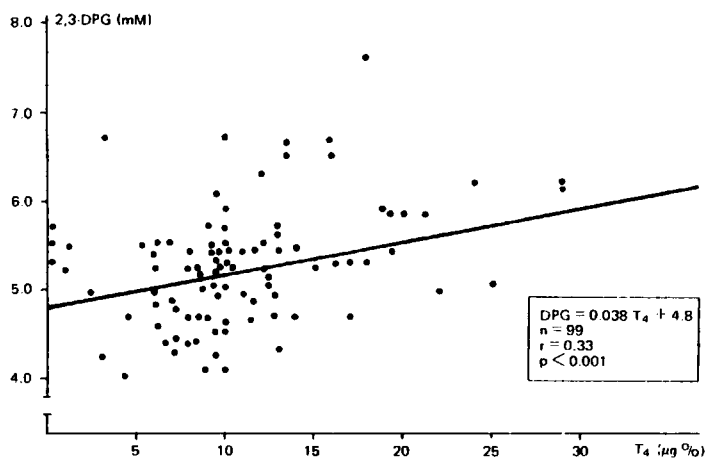


Fig. 10. Correlación entre los niveles eritrocitarios de 2,3-DPG y las concentraciones séricas de T_4 en 72 enfermos tiroideos (hiper-normo-e hipofuncionantes) estudiados en 99 ocasiones distintas. Datos en recuadro como en la figura 2.

Tabla 22: Hallazgos en enfermos con cirrosis hepática.

Enfermos	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	pH	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	SaO ₂ (%)	CaO ₂ (ml %)	L (mg %)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
1. AVP	58	F	9.9	30	33.0	3.6	123	23	-	7.43	95	37	25	97	13.1	-	5.54	16.80
2. JSM	60	M	14.5	38	38.1	2.8	98	20	3.8	7.48	83	33	26	97	19.1	4.0	8.74	22.91
3. LPN	43	M	11.6	39	29.7	3.6	90	9	3.0	7.34	94	45	23	97	15.3	7.4	8.97	30.18
4. CVG	78	M	11.7	36	32.5	4.7	162	38	4.9	7.46	72	24	19	95	15.1	-	7.89	24.29
5. MLP	60	F	10.2	31	32.9	2.6	118	8	3.5	7.36	73	38	22	94	13.0	4.5	7.61	23.14
6. MGM	54	M	11.7	35	33.4	3.5	112	24	3.7	7.50	50	22	22	90	14.2	7.4	10.15	30.36
7. MGA	65	M	11.5	39	29.4	3.1	111	8	3.8	7.36	81	38	21	94	14.7	-	8.83	29.94
8. DBG	77	M	8.4	27	31.1	3.1	106	30	-	7.45	94	30	-	100	11.5	8.9	7.09	22.81
9. RCB	52	M	13.6	38	35.7	2.6	141	18	4.8	7.45	74	40	27	96	17.7	8.9	7.00	19.56
10. JGR	69	F	11.0	36	30.5	3.1	420	41	5.6	7.50	86	34	26	97	14.5	8.4	8.60	28.14
11. CGH	51	M	11.8	32	36.8	3.4	100	23	4.2	7.46	69	26	21	93	14.9	11.8	7.23	19.62
12. EJV	47	M	15.8	49	32.2	3.5	104	14	3.1	7.51	66	35	-	95	20.3	13.3	8.31	25.79
13. FLR	59	F	7.8	30	26.0	2.9	116	21	3.9	7.50	71	40	32	96	10.2	-	8.93	34.34
14. MCL	50	M	11.0	31	35.4	3.4	95	9	4.1	7.44	56	33	23	90	13.4	10.8	7.89	22.25
15. CFA	51	F	15.6	45	34.6	3.3	130	14	-	7.41	77	37	23	95	20.0	9.8	5.64	16.26
16. LAP	58	F	7.0	23	30.4	3.6	109	11	3.9	7.37	107	34	20	97	9.4	-	6.48	21.31
17. ABV	69	M	10.1	29	34.8	-	144	39	4.3	7.40	68	38	24	92	12.6	-	5.07	14.57
18. MLP	60	F	11.7	36	32.5	3.9	144	25	-	7.42	77	35	22	96	15.2	5.3	6.86	21.11
19. PGD	64	F	10.3	34	30.2	2.7	88	10	3.4	7.41	65	32	24	92	12.8	6.4	7.28	24.04
20. DNB	79	F	9.8	31	31.6	3.1	99	11	3.6	7.45	60	36	25	91	12.1	4.0	7.23	22.89
21. MRB	53	F	6.5	22	29.5	1.7	135	20	3.1	7.53	87	34	36	97	8.7	8.3	9.49	32.13
22. EFS	74	F	14.8	45	32.8	4.1	149	22	4.2	7.43	99	40	33	97	19.5	9.3	6.20	18.86
23. PRT	66	F	9.7	31	31.2	2.6	105	20	4.2	7.38	96	41	21	97	12.9	7.4	6.72	21.47
24. IGG	61	F	16.5	47	35.1	3.2	107	14	-	7.39	107	35	21	98	21.9	-	5.49	15.66

Tabla 22 (Continuación)

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	pH	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	CO ₂ H ⁺ (mEq/l)	SaO ₂ (%)	CaO ₂ (ml %)	L (mg %)	2,3-DPG (mM) (μmol/g Hb)	
25. MMF	55	F	14.4	43	33.4	3.5	212	13	-	7.35	72	42	23	94	18.3	8.1	6.76	20.21
26. MMC	65	M	15.1	44	34.3	3.3	117	25	3.6	7.36	60	44	23	89	18.1	11.5	7.14	20.81
27. MFB	76	F	10.4	34	30.5	2.5	84	10	3.3	7.40	78	33	21	95	13.4	8.6	7.05	23.04
28. AAF	62	F	10.6	33	32.1	3.5	104	17	4.3	7.42	64	38	24	92	13.2	6.4	6.34	19.75
29. GGA	55	M	13.8	44	31.3	3.9	102	15	-	7.43	80	36	21	96	18.0	7.6	7.23	23.07
30. RCS	57	M	15.6	53	29.2	2.6	157	20	4.7	7.41	60	45	29	92	19.2	8.3	7.14	24.42
31. FLR	60	F	12.8	38	33.6	3.6	132	18	-	7.43	93	36	22	97	16.9	7.1	6.72	19.95
32. ADG	39	F	7.5	24	31.2	3.5	106	16	4.2	7.41	70	36	22	95	9.7	9.3	8.15	26.10
33. JMG	60	M	13.0	35	37.1	4.4	99	20	-	7.39	72	29	19	94	16.5	-	7.78	20.95
34. FGB	48	M	14.9	42	35.4	4.0	113	20	4.2	7.38	95	34	19	97	19.6	-	7.28	20.53
35. SMC	69	F	13.6	40	34.0	3.3	153	22	3.4	7.44	85	43	28	97	17.9	-	6.01	17.69
36. SFG	46	F	9.4	31	30.3	3.7	103	8	-	7.36	104	37	21	97	12.5	-	7.14	23.56
37. EOL	64	F	10.4	34	30.5	3.4	152	18	4.2	7.37	89	42	24	97	13.7	-	7.09	23.20
38. JAG	51	M	17.3	49	35.3	-	-	-	4.1	7.40	62	37	21	93	21.7	7.6	7.99	22.63
39. BMD	52	M	9.7	31	31.2	4.6	129	28	4.4	7.38	80	41	22	96	12.7	9.6	7.70	24.63
40. DHC	59	M	13.0	40	32.5	2.7	104	12	4.2	7.42	86	30	19	97	17.1	8.1	7.99	24.58
41. AGL	65	M	12.9	35	36.8	2.7	96	9	4.5	7.41	77	40	25	96	16.8	-	8.50	23.08
42. FJD	61	M	14.0	41	34.1	3.2	117	20	3.6	7.48	77	42	29	96	18.2	-	8.46	24.77
43. TRA	49	F	13.5	40	33.7	3.6	120	17	4.4	7.36	73	39	21	94	17.2	-	6.43	19.07
44. LGS	50	M	6.5	19	34.2	2.8	143	107	4.2	7.37	88	30	16	96	8.8	-	8.31	24.31
45. JDL	57	F	13.7	39	35.1	3.4	110	10	-	7.36	91	42	22	97	18.0	-	6.43	18.33
46. MMJ	55	F	10.9	34	32.0	3.7	220	23	3.2	7.49	66	27	20	95	14.0	-	9.02	28.14
47. JMG	60	M	10.0	27	37.0	4.1	126	32	5.4	7.38	92	35	20	97	13.2	-	7.33	19.79
48. ALG	71	M	10.9	34	32.0	2.2	125	29	-	7.34	83	48	23	96	14.2	-	5.59	17.44

Tabla 22 (Continuación)

Enfermos	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	pH	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	SeO ₂ (%)	CaO ₂ (ml %)	L (mg %)	2,3-DPG (mM)	
49. CCM	73	F	10.5	33	31.8	4.0	206	35	4.1	7.39	97	32	17	97	13.9	-	7.23	22.74
50. FAM	52	F	11.3	32	35.3	3.3	120	13	-	7.46	70	37	24	95	14.6	-	8.22	23.29
51. JRP	53	M	14.4	42	34.2	3.0	135	14	3.7	7.34	112	31	15	98	19.2	-	8.13	23.71
52. FPG	63	M	14.2	42	33.8	3.7	107	12	4.3	7.37	98	34	18	97	18.7	-	6.53	19.32
53. JCL	57	F	13.9	40	34.7	3.1	93	14	3.8	7.36	89	36	22	97	18.3	-	4.74	13.66
54. JGB	72	M	13.5	40	33.7	3.3	114	14	3.7	7.47	58	46	33	93	17.0	-	7.33	21.72
55. ACS	65	F	9.5	30	31.6	4.0	207	22	4.4	7.46	103	34	23	97	12.6	-	8.50	26.86
56. PMO	60	F	10.3	34	30.2	3.2	96	45	3.6	7.51	73	30	22	96	13.4	-	10.15	33.51
57. FMR	62	F	13.0	40	32.5	3.9	112	-	-	7.43	-	34	23	-	-	-	5.64	17.35
58. LTF	39	F	11.0	36	30.5	3.5	98	12	3.7	7.38	94	36	21	97	14.5	-	5.82	19.07
59. LLM	75	F	9.7	29	33.4	2.8	121	25	3.8	7.44	57	39	26	92	12.1	-	9.96	29.78
60. FAM	51	M	10.7	35	30.5	3.0	96	7	3.6	7.44	59	34	22	93	13.5	-	6.86	22.44

Tabla 23: Resultados en el grupo de enfermos con cirrosis hepática (Grupo C), con referencia a ambos sexos (Grupos C1 y C2)

Grupo C (n = 60)	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	pH	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	SeO ₂ (%)	CaO ₂ (ml %)	L (mg %)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
n	60	60	60	60	58	59	58	46	60	59	60	58	59	59	28	60	60
Rango	39-79	6.5-17.3	19-53	26.0-38.1	1.7-4.7	84-420	7-107	3.0-5.6	7.34-7.53	50-112	22-48	15-36	89-100	8.7-21.9	4.0-13.3	4.74-10.15	13.66-34.34
\bar{x}	59.43	11.80	35.85	32.80	3.32	127.37	20.58	3.99	7.42	79.89	36.00	23.03	95.25	15.21	8.14	7.40	22.69
SD	9.44	2.50	6.82	2.35	0.57	48.62	14.53	0.55	0.04	14.95	5.30	4.02	2.27	3.24	2.21	1.23	4.47

Grupo C (Cirrosis hepática)	n	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
Grupo C1: Hombres (M)	28	58.5 ± 9.1	12.53 ± 2.41	37.35 ± 8.27	33.63 ± 2.48	7.65 ± 1.01	22.87 ± 3.56
Grupo C2: Mujeres (F)	32	60.2 ± 9.7	11.16 ± 2.44	34.53 ± 6.11	32.17 ± 2.13	7.17 ± 1.46	22.54 ± 5.18
Significación	-	NS	p < 0.05	p < 0.05	p < 0.02	NS	NS

Tabla 24: Alteraciones hemáticas más características encontradas en los 60 casos de cirrosis hepática.

Cirrosis hepática	
Total	60 casos (100 %)
Hombres	28 casos (46.6 %)
Mujeres	32 casos (53.3 %)
Anemia	30 casos (50 %)
Hipoxemia	30 casos (50 %)
Alcalosis	34 casos (56.6 %)
Respiratoria	25 casos (41.6 %)
Metabólica	5 casos (8.3 %)
Mixta	4 casos (6.6 %)
Hiperventilación	23 casos (38.3 %)
Sin alcalosis	8 casos (13.3 %)

Tabla 25: Comparación estadística entre los grupos C (cirrosis hepática), A (anemia) y N (controles normales).

Cirrosis hepática		n	Edad (años)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG	
versus	Anemia y Normales						(mM)	($\mu\text{mol/g Hb}$)
Grupo C		60	59.4 \pm 9.4	11.80 \pm 2.50	35.85 \pm 6.82	32.80 \pm 2.35	7.40 \pm 1.23	22.69 \pm 4.47
Grupo C1		28	58.5 \pm 9.1	12.53 \pm 2.41	37.35 \pm 8.27	33.63 \pm 8.27	7.65 \pm 1.01	22.87 \pm 3.56
Grupo C2		32	60.2 \pm 9.7	11.16 \pm 2.44	34.53 \pm 6.11	32.17 \pm 2.13	7.17 \pm 1.46	22.54 \pm 5.18
Grupo A		40	37.3 \pm 20.7	10.07 \pm 1.72	32.92 \pm 5.10	30.77 \pm 3.37	5.79 \pm 1.02	19.22 \pm 4.27
Grupo N		120	28.0 \pm 15.6	14.29 \pm 1.61	43.74 \pm 4.20	32.64 \pm 1.89	4.54 \pm 0.57	13.98 \pm 2.05
Grupo N1		60	28.6 \pm 16.5	15.07 \pm 1.69	45.71 \pm 4.67	32.96 \pm 2.02	4.48 \pm 0.57	13.67 \pm 2.03
Grupo N2		60	27.6 \pm 14.8	13.51 \pm 1.05	41.76 \pm 2.41	32.33 \pm 1.70	4.60 \pm 0.57	14.29 \pm 2.03
Significación	C VS N		p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	NS	p < 0.001	p < 0.001
de la	C1 VS N1		p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	NS	p < 0.001	p < 0.001
Diferencia	C2 VS N2		p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	NS	p < 0.001	p < 0.001
	C VS A		p < 0.001	p < 0.001	p < 0.025	p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001

en el resto es o bien metabólica (8.3 %) o bien mixta (6.6 %); existe un síndrome de hiperventilación (pCO_2 arterial menor de 35 mm Hg) en un 38.3 % de los enfermos, que cursa sin alcalosis en el 13.3 % de ellos. En el conjunto de los enfermos cirróticos de nuestro protocolo se puede evidenciar una hipoxemia (pO_2 arterial menor de 80 mm Hg) en un 50 % de los casos; pero en todos ellos la SaO_2 es normal (por encima del 90 %), salvo en una ocasión, en que ha sido del 89 % (tabla 24). Se demuestra una significativa correlación ($n = 60$; $r = -0.3519$; $p < 0.01$) entre el pH plasmático y la pCO_2 , cuya recta de regresión es $pCO_2 = -37.6 \text{ pH} + 314$ (Fig. 11).

En efecto, el pH plasmático ha mostrado para los 60 enfermos afectados de cirrosis hepática unos niveles que han oscilado entre 7.34 y 7.53, con un valor medio (sin corrección previa a unidades de concentración de hidrogeniones) de 7.42 ± 0.04 . La pO_2 arterial ha variado entre 50 y 112 mm Hg (a seis enfermos se les administraba oxígeno continuo con ventimask) con una cifra media de 79.89 ± 14.95 mm Hg. La pCO_2 arterial se ha encontrado entre los límites de 22 y

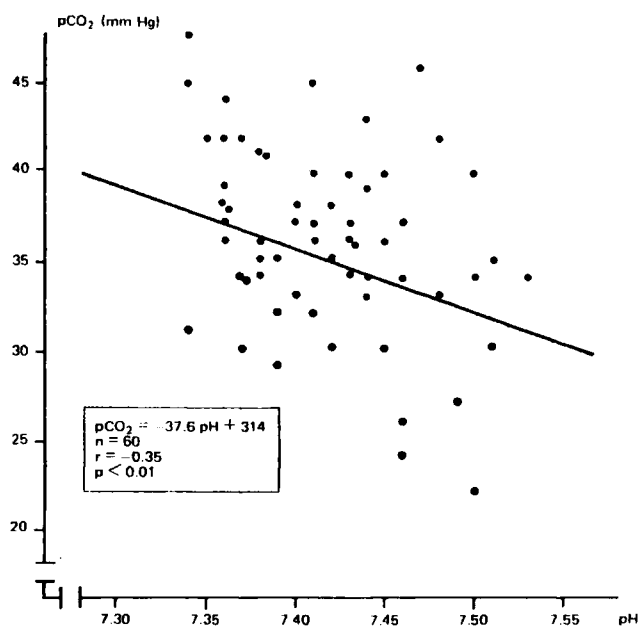


Fig. 11. Correlación entre el pH plasmático y la pCO_2 en sangre arterial en la cirrosis hepática. En recuadro se expresan los mismos datos que en la figura 2.

48 mm Hg con una tasa media de 36.00 ± 5.30 mm Hg. El bicarbonato plasmático ha oscilado entre 15 y 36 mEq/l con un valor medio de 23.03 ± 4.02 mEq/l. La SaO_2 , como ya hemos indicado, ha sido prácticamente siempre normal, con un valor medio de 95.25 ± 2.27 % y valores extremos de 89 y 100 %. El contenido arterial de oxígeno (CaO_2), calculado en la forma expuesta en Material y Métodos, ha mostrado una gran diversidad de valores, situados entre 8.7 y 21.9 ml % y con un nivel medio para el grupo de 15.21 ± 3.24 ml % (tabla 23).

Los niveles de lactato en sangre han sido normales en los 28 casos en los que se han estudiado, con una concentración media de 8.14 ± 2.21 mg % y unos valores límite de 4.0 y 13.3 mg %. También se pueden considerar como normales las concentraciones plasmáticas medias de P, G, BUN y K^+ (tabla 23). En general, el contenido eritrocitario en 2,3-DPG en este grupo C de enfermos diagnosticados de cirrosis hepática se encuentra francamente elevado, con unas concentraciones extremas de 4.74 y 10.15 mM (13.66 y 34.34 $\mu\text{moles/g Hb}$) y con un nivel medio de 7.40 ± 1.23 mM (22.69 ± 4.47 $\mu\text{moles/g Hb}$) (tabla 23). Al comparar estos valores, tanto en su conjunto para el grupo C como particularmente para los grupos C1 (hombres) o C2 (mujeres), con los objetivados en nuestros controles normales (grupos N y N1 ó N2 respectivamente), evidenciamos que existe una diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.001$) (tabla 25). Además, llama inmediatamente la atención el hecho de que esta diferencia persiste ($p < 0.001$) al establecer una comparación de medias aritméticas con el grupo A, de enfermos con anemia simple. Es decir, en la cirrosis hepática las concentraciones de 2,3-DPG se encuentran francamente elevadas, muy por encima de los valores normales (Fig. 12), pero también, y esto es lo sorprendente, por encima de lo que objetivamos en los casos de anemia simple (grupo A), a pesar de que en este último grupo de enfermos las tasas de Hb y Hcto son claramente menores ($p < 0.001$) que las de los pacientes afectos de cirrosis hepática (como ya comentamos más arriba) (tabla 25). En este sentido podríamos decir que los enfermos con cirrosis hepática tienen un contenido eritrocitario en 2,3-DPG muy superior al que les correspondería por su grado de anemia (Fig. 21). Para cuantificar este hecho de alguna forma nos hemos valido de la ecuación de la recta de regresión entre la Hb y el 2,3-DPG ($\text{DPG (mM)} = -0.34 \text{ Hb (g \%)} + 9.2$), que habíamos calculado como propia de los enfermos con anemia simple (grupo A) y que, por lo tanto, expresa la relación entre estos dos parámetros bioquímicos en este grupo de pacientes (tabla 9 y Fig. 6). En la mencionada ecuación hemos sustituido las cifras de la Hb (g %) de cada uno de los enfermos cirróticos, para obtener así un valor teórico de 2,3-DPG (mM) para su grado de anemia. La media aritmética de todos los valores teóricos de 2,3-DPG así calculados, para cada uno de los 60 pacientes afectos de cirrosis hepática, ha sido de 5.18 ± 0.84 mM. Este valor teórico (VT) para su grado de anemia es significativamente menor ($p < 0.001$) que el valor medio real determinado, pero aún claramente superior ($p < 0.001$) a las concentraciones normales de 2,3-DPG (Fig. 12). Prácticamente se obtiene el mismo valor teórico de 2,3-DPG (mM) si sobre la recta de la Fig. 6 llevamos el valor

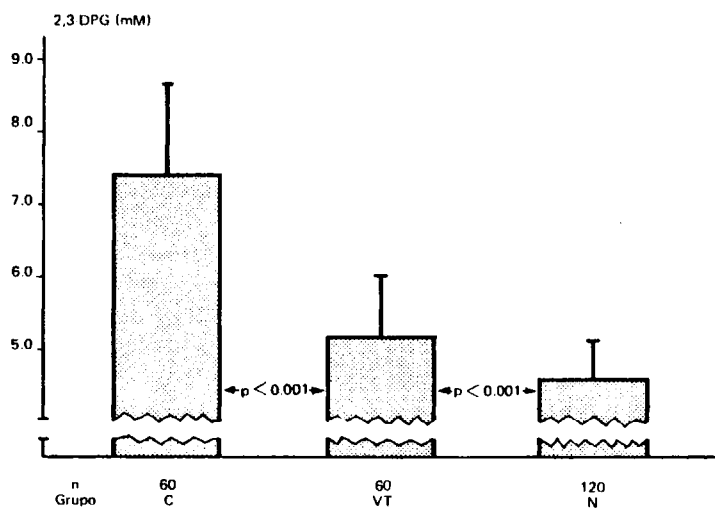


Fig. 12. Niveles medios de 2,3-DPG en 60 casos de cirrosis hepática (Grupo C). En la columna central se indica el valor teórico medio (VT) de 2,3-DPG, que les correspondería a estos enfermos por su grado de anemia. En la columna de la derecha se representan los valores normales de 2,3-DPG (Grupo N). Signos y abreviaturas como en la figura 3.

medio de la Hb de los enfermos cirróticos (11.8 g %) y proyectamos su intersección sobre el eje de las ordenadas.

En las tablas 26 (el 2,3-DPG viene expresado en su concentración en la forma mM) y 27 (el 2,3-DPG viene expresado como $\mu\text{moles/g Hb}$) resumimos el análisis de la relación estadística entre las dos variables, dependiente (2,3-DPG) e independiente (sucesivamente, el resto de los parámetros bioquímicos estudiados) en los 60 casos de cirrosis hepática.

Es evidente que la correlación más fuerte ($p < 0.001$) se establece entre el 2,3-DPG (tanto mM como $\mu\text{moles/g Hb}$) y el pH plasmático. En la Fig. 13 representamos gráficamente esta relación (el pH no ha sido transformado en unidades de concentración de hidrogeniones por los motivos expuestos en Material y Métodos). Se demuestra también una valorable correlación ($p < 0.05$) entre el 2,3-DPG (mM) y la pO_2 , la pCO_2 y el CaO_2 o entre el 2,3-DPG ($\mu\text{moles/g Hb}$) y la Hb ($p < 0.01$), la CHCM ($p < 0.001$) y el CaO_2 ($p < 0.001$). En la Fig. 14 representamos gráficamente la relación entre el 2,3-DPG (mM) y la pO_2 en sangre arterial (mm Hg).

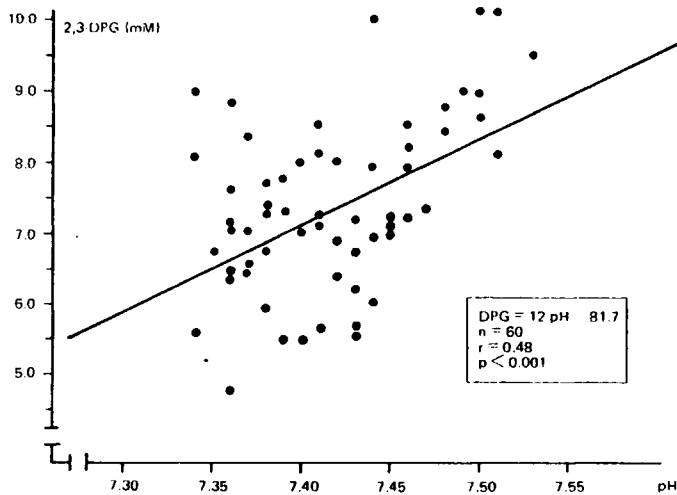


Fig. 13. Correlación entre el pH plasmático y el 2,3-DPG eritrocitario en la cirrosis hepática. En recuadro se expresan los mismos datos que en la figura 2.

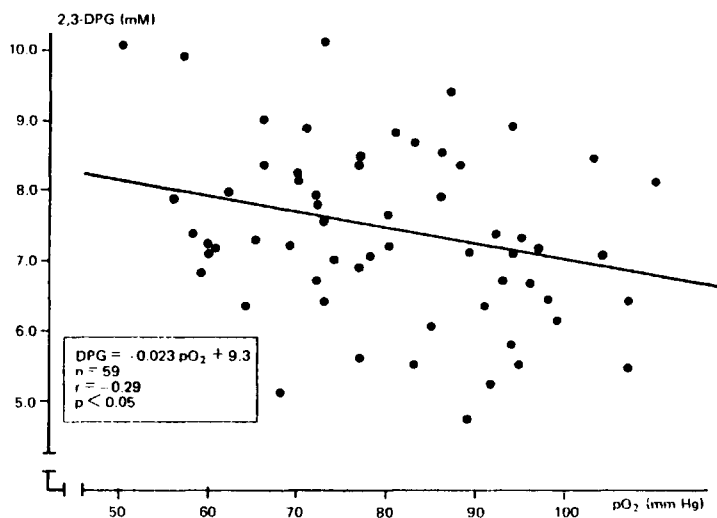


Fig. 14. Correlación entre la pO_2 arterial y el 2,3-DPG eritrocitario en la cirrosis hepática. En recuadro se expresan los mismos datos que en la figura 2.

Tabla 26: Grupo C: Correlación del 2,3-DPG (mM) con el resto de los parámetros estudiados

y = 2,3-DPG (mM)		n	r	a	b	y = ax + b	P
x =	Edad (años)	60	-0.0885	-0.011	8.0	DPG = -0.01 E + 8	NS
	Hb (g %)o)	60	-0.2351	-0.11	8.7	DPG = -0.11 Hb + 8.7	NS
	Hcto (%o)	60	-0.2056	-0.037	8.7	DPG = -0.037 Hcto + 8.7	NS
	CHCM (%o)	60	-0.1679	-0.087	10.2	DPG = -0.087 CHCM + 10.2	NS
	P (mg %o)	58	-0.1369	-0.29	8.3	DPG = -0.29 P + 8.3	NS
	G (mg %o)	59	0.124	0.004	6.5	DPG = 0.004 G + 6.5	NS
	BUN (mg %o)	58	-0.1596	0.013	7.1	DPG = 0.013 BUN + 7.1	NS
	K ⁺ (mEq/l)	46	-0.1790	-0.39	9.2	DPG = -0.39 K + 9.2	NS
	pH (-)	60	0.4827	12.0	-81.7	DPG = 12 pH - 81.7	< 0.001
	pO ₂ (mm Hg)	59	-0.2903	-0.023	9.3	DPG = -0.023 pO ₂ + 9.3	< 0.05
	pCO ₂ (mm Hg)	60	-0.3014	-0.070	9.9	DPG = -0.07 pCO ₂ + 9.9	< 0.05
	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	58	0.0967	0.029	6.6	DPG = 0.029 CO ₃ H ⁻ + 6.6	NS
	SaO ₂ (%o)	59	-0.1416	-0.075	14.6	DPG = -0.075 SaO ₂ + 14.6	NS
	CaO ₂ (ml %o)	59	-0.2578	-0.098	8.9	DPG = -0.098 CaO ₂ + 8.9	< 0.05
	L (mg %o)	28	-0.0474	-0.021	7.7	DPG = -0.021 L + 7.7	NS

Tabla 27: Grupo C: Correlación del 2,3-DPG ($\mu\text{moles/g Hb}$) con el resto de los parámetros estudiados.

$y = 2,3\text{-DPG } (\mu\text{ mol/g Hb})$	n	r	a	b	$y = ax + b$	P
$x =$ Edad (años)	60	-0.0066	-0.003	23	$\text{DPG} = -0.003 E + 23$	NS
Hb (g %)	60	-0.3967	-0.70	31	$\text{DPG} = -0.70 \text{ Hb} + 31$	< 0.01
Hcto (%)	60	-0.2492	-0.16	28	$\text{DPG} = -0.16 \text{ Hcto} + 28$	NS
CHCM (%)	60	-0.5359	-1.01	55	$\text{DPG} = -1.01 \text{ CHCM} + 55$	< 0.001
P (mg %)	58	-0.1854	-1.43	27	$\text{DPG} = -1.43 P + 27$	NS
G (mg %)	59	0.1351	0.012	21	$\text{DPG} = 0.012 G + 21$	NS
BUN (mg %)	58	0.1112	0.034	22	$\text{DPG} = 0.034 \text{ BUN} + 22$	NS
K^+ (mEq/l)	46	-0.2468	-2.0	31	$\text{DPG} = -2 K + 31$	NS
pH (-)	60	0.4635	41.8	-287	$\text{DPG} = 41.8 \text{ pH} - 287$	< 0.001
pO_2 (mm Hg)	59	-0.2228	-0.066	28	$\text{DPG} = -0.066 \text{ pO}_2 + 28$	NS
pCO_2 (mm Hg)	60	-0.2038	-0.172	28	$\text{DPG} = -0.172 \text{ pCO}_2 + 28$	NS
$\text{CO}_3 \text{H}^-$ (mEq/l)	58	0.1856	0.208	17	$\text{DPG} = 0.208 \text{ CO}_3 \text{H}^- + 17$	NS
SaO_2 (%)	59	-0.0765	-0.14	37	$\text{DPG} = -0.14 \text{ SaO}_2 + 37$	NS
CaO_2 (ml %)	59	-0.4673	-0.56	30	$\text{DPG} = -0.56 \text{ CaO}_2 + 30$	< 0.001
L (mg %)	28	-0.0628	-0.01	24	$\text{DPG} = -0.01 L + 24$	NS

F. ENFERMEDADES PULMONARES OBSTRUCTIVAS CRONICAS (GRUPO B)

Los resultados obtenidos del análisis de cada uno de los 47 estudios efectuados en los 44 casos (34 hombres y 10 mujeres) de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC, grupo B) se relacionan en la tabla 28 y se resumen en la forma habitual en la 29.

Como era de esperar, aunque los índices de Hb y de Hcto han oscilado ampliamente (de 12.5 a 24.0 g % para el primero y de 38 a 68 % para el segundo), los valores medios (16.43 ± 2.24 g % para la Hb y 51.68 ± 7.22 % para el Hcto) se inscriben claramente por encima de los límites que pueden ser considerados como normales. Por ello, no es de extrañar que tales valores, a este respecto, difieran significativamente ($p < 0.001$), desde un punto de vista estadístico, de nuestros controles normales (tabla 30).

Aunque también han variado entre amplios márgenes, los niveles medios de P, G y K^+ se pueden considerar como normales. Por el contrario, el valor medio del BUN (27.47 ± 12.98 mg %) se sitúa en el límite superior de la normalidad según los controles del Laboratorio Central del Hospital (tabla 29).

Por lo que se refiere a las determinaciones del pH plasmático y de los gases respiratorios en sangre arterial solamente en tres ocasiones hemos podido hacer constar una situación de acidosis respiratoria (con un pH de 7.14, 7.19 y 7.28 y con una pCO_2 de 65, 125 y 62 mm Hg, respectivamente). En el resto de tales determinaciones el pH podría ser considerado como normal o incluso como elevado, dentro de una situación de alcalosis respiratoria por hiperventilación y en cuyo origen la hipoxemia indudablemente debe de haber jugado un papel importante. En efecto, el pH plasmático se ha situado en todos los casos entre unos valores extremos de 7.14 y 7.48 con un valor medio (sin corrección previa a unidades de concentración de hidrogeniones) de 7.36 ± 0.06 , que se encuentra claramente dentro de los límites normales. La pO_2 arterial ha oscilado entre 23 y 98 mm Hg con una tasa media de 58.65 ± 14.96 mm Hg, muy por debajo de la normalidad. Es decir, y como cabría esperar, en este grupo B de enfermos se aprecia una neta situación de hipoxemia. La pCO_2 arterial, cuyos valores han variado entre 31 y 125 mm Hg, tiene un valor medio para el grupo de 56.93 ± 16.90 mm Hg, evidentemente por encima de los límites habitualmente considerados como normales. Es decir, nuevamente aquí, como era lógico suponer, estos pacientes con EPOC muestran una evidente situación de hipercarbia. El bicarbonato plasmático, que ha oscilado entre unos valores extremos de 19 y 48 mEq/l, ofrece un valor medio de 30.50 ± 6.35 mEq/l, que se localiza en el límite superior de la normalidad, en un claro intento compensador de la situación de retención de anhídrido carbónico, propia de estos enfermos.

En correspondencia con la ya comentada hipoxemia la SaO_2 , que ha variado entre los límites del 61 y 97 %, tiene un nivel medio para este grupo B de 86.95 ± 8.79 %, indudablemente inferior a lo que en general se acepta como normal. El CaO_2 , calculado en la forma ya referida con anterioridad, nos ha mostrado amplias diferencias de unos enfermos a otros, debido sobre todo a

Tabla 28: Hallazgos en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	pH	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	SO ₂ (%)	CaO ₂ (ml %)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
1. FGG	54	M	18.5	60	30.8	3.5	157	30	4.2	7.44	82	31	22	97	24.3	6.11	19.81
2. BIP	77	M	13.5	42	32.1	3.5	109	23	4.2	7.36	64	44	25	90	16.4	5.45	16.96
3. AFF	72	F	16.8	51	32.9	3.0	107	63	6.1	7.37	37	86	48	68	15.4	8.55	25.96
4. PAF	61	M	18.1	57	31.7	-	-	-	-	7.37	64	59	35	90	22.0	4.70	14.80
5. SST	73	M	15.2	44	34.5	3.0	90	26	4.5	7.38	85	40	24	95	19.6	4.18	12.10
6. ACS	73	M	20.9	62	33.7	3.2	-	20	4.6	7.36	86	57	33	95	26.8	5.17	15.33
7. JGC	76	F	14.3	40	35.7	3.3	130	22	5.0	7.41	56	36	24	88	17.0	6.67	18.66
8. CRC	24	F	16.5	60	27.5	5.1	112	32	-	7.40	60	53	34	92	20.5	5.17	18.80
9. ACG	58	M	17.2	51	33.7	3.9	95	27	4.2	7.34	57	53	24	85	19.7	4.70	13.93
10. ASP	47	M	15.8	48	32.9	3.6	136	13	4.8	7.37	69	46	27	92	19.6	3.76	11.42
11. DFN	52	M	18.6	51	36.4	3.6	96	22	4.7	7.41	69	47	24	94	23.6	5.17	14.17
12. APP	72	M	15.3	45	34.0	3.6	72	13	4.0	7.39	43	60	35	78	16.1	5.45	16.03
13. CCV	86	F	13.1	40	32.7	3.5	96	29	4.0	7.39	64	40	24	90	15.9	6.43	19.66
14. AOL	69	F	14.4	44	32.7	3.7	131	23	3.7	7.38	62	51	31	91	17.7	6.11	18.66
15. SPF	47	M	20.0	68	29.4	5.2	141	34	4.6	7.19	38	125	-	61	16.4	4.04	13.74
16. ABV	69	M	14.1	45	31.3	3.2	104	31	4.3	7.48	70	38	25	95	18.1	5.40	17.25
17. RCG	60	M	24.0	67	35.8	2.3	99	18	4.4	7.31	57	62	32	87	28.1	4.04	11.28
18. MPN	68	M	16.8	47	35.7	3.4	125	16	-	7.31	67	51	26	92	20.9	3.33	9.33
19. ANB	67	M	15.7	55	28.5	4.3	131	36	4.1	7.36	38	60	29	70	14.8	7.28	25.52
20. DCG	72	M	17.0	60	28.3	-	-	-	-	7.32	58	59	29	88	20.2	4.23	14.92
21. LBS	66	M	17.2	50	34.4	3.5	88	17	-	7.45	53	49	31	85	19.7	4.84	14.07
22. ABM	63	M	13.3	46	28.9	4.5	97	70	4.6	7.31	59	40	19	85	15.3	3.76	13.00
23. MCF	38	M	17.6	48	36.6	3.3	109	20	4.0	7.30	48	65	32	80	19.0	6.86	18.71
24. GGD	76	M	15.0	59	25.4	-	135	50	4.0	7.14	23	65	21	-	-	4.23	16.63

Tabla 28 (Continuación)

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	pH	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	SaO ₂ (%)	CaO ₂ (ml %)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmol/g Hb)
25. MPA	56	M	17.4	53	32.8	4.1	111	36	5.7	7.42	63	42	26	94	22.1	5.73	17.46
26. LSM	59	M	17.7	51	34.7	4.9	116	25	4.1	7.31	67	54	25	92	22.0	5.49	15.84
27. JPC	77	F	16.3	50	32.6	4.0	112	30	3.8	7.46	56	47	31	95	20.9	5.96	18.30
28. NGC	62	M	17.5	51	34.3	3.0	131	33	4.4	7.46	76	42	28	96	22.7	5.02	14.65
29. DCG	72	M	16.8	57	29.4	-	-	-	-	7.39	57	59	34	90	20.4	3.94	13.39
30. MRL	37	M	16.9	60	28.1	4.3	-	14	4.5	7.31	98	90	32	96	22.0	4.51	16.01
31. AVA	59	M	-	58	-	-	100	16	4.0	7.38	55	76	40	87	-	4.08	-
32. TGT	50	M	18.8	60	31.3	4.0	86	22	4.5	7.36	53	69	39	87	22.0	5.26	16.80
33. RFM	64	M	14.1	48	29.3	3.7	110	22	3.7	7.35	37	55	29	70	13.3	6.25	21.28
34. MCR	85	F	13.7	40	34.2	3.6	94	42	4.4	7.40	58	64	37	92	17.0	7.14	20.85
35. PBS	84	F	12.5	40	31.2	3.1	92	25	4.8	7.35	65	57	29	93	15.7	5.40	17.29
36. MGV	62	M	17.5	54	32.4	3.8	122	25	5.0	7.48	56	43	31	97	22.9	6.45	19.90
37. PGD	56	F	14.8	53	27.9	3.3	95	46	5.6	7.34	36	87	45	66	13.0	6.15	22.04
38. JGG	47	F	14.9	50	29.8	4.0	88	17	-	7.38	50	57	34	86	17.3	5.26	17.66
39. PGD	56	F	15.5	51	30.3	3.7	95	16	4.0	7.39	56	57	34	90	18.8	4.88	16.08
40. CRR	71	M	16.5	48	34.3	-	-	-	-	7.34	67	46	25	91	20.3	4.32	12.57
41. LMP	59	M	16.9	53	31.8	-	-	-	-	7.36	43	70	39	77	17.5	4.70	14.73
42. CO	53	M	18.9	61	30.9	-	-	-	-	7.36	61	64	37	89	22.7	4.23	13.65
43. JLC	52	M	14.2	38	37.3	-	-	-	-	7.41	90	38	24	91	17.5	5.64	15.09
44. LRM	39	M	-	49	-	-	-	-	-	7.44	50	41	27	86	-	4.13	-
45. MGA	53	M	-	55	-	3.6	94	28	-	7.34	61	69	37	91	-	7.05	-
46. LMP	59	M	16.9	53	31.8	-	-	-	-	7.36	43	70	39	77	17.5	4.70	14.73
47. MGA	53	M	-	56	-	3.6	94	12	4.7	7.28	50	62	27	80	-	6.90	-

Tabla 29: Resultados en el grupo de pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Grupo B).

Grupo B																
M = 38; Edad	Hb	Hcto	CHCM	P	G	BUN	K ⁺	pH	pO ₂	pCO ₂	CO ₃ H ⁻	SaO ₂	CaO ₂	2,3-DPG		
F = 11 (años)	(g %)	(%)	(%)	(mg %)	(mg %)	(mg %)	(mEq/l)	-	(mm Hg)	(mm Hg)	(mEq/l)	(%)	(ml %)	(mM)	(μmol/g Hb)	
n	47	43	47	43	36	36	38	33	47	47	47	46	46	42	47	43
Rango	24-86	12.5-24.0	38-68	25.4-37.3	2.3-5.2	72-157	12-70	3.7-6.1	7.14-7.48	23-98	31-125	19-48	61-97	13.0-28.1	3.33-8.55	9.33-25.96
\bar{x}	61.59	16.43	51.68	32.09	3.69	108.33	27.47	4.46	7.36	58.65	56.93	30.50	86.95	19.35	5.29	16.48
SD	13.0	2.24	7.22	2.77	0.59	18.89	12.98	0.55	0.06	14.96	16.90	6.35	8.79	3.37	1.13	3.50

Tabla 30: Comparación estadística entre el grupo B (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) y el N (controles normales).

EPOC versus		Edad	Hb	Hcto	CHCM	2,3-DPG	
Normales	n	(años)	(g %)	(%)	(%)	(mM)	(μmol/g Hb)
Grupo B	47	61.59 ± 13.0	16.43 ± 2.24	51.68 ± 7.22	32.09 ± 2.77	5.29 ± 1.13	16.48 ± 3.50
Grupo N	120	28.0 ± 15.6	14.29 ± 1.61	43.74 ± 1.89	32.64 ± 1.89	4.54 ± 0.57	13.98 ± 2.05
Significación		p < 0.001	p < 0.001	p < 0.001	NS	p < 0.001	p < 0.001

sus distintas tasas de Hb. Con un valor medio de 19.35 ± 3.37 ml %, que se puede considerar como normal, ha oscilado entre los extremos de 13.0 y 28.1 ml % (tabla 29).

La concentración intraeritrocitaria de 2,3-DPG ha mostrado una evidente tendencia hacia valores superiores a la normalidad, pero con amplios márgenes de variación, situados en 3.33 y 8.55 mM (9.33 y 25.96 μ moles/g Hb). El valor medio para el grupo ha sido de 5.29 ± 1.13 mM (16.48 \pm 3.50 μ moles/g Hb) (tabla 29), que ofrece una diferencia estadística significativa ($p < 0.001$) al compararlo con nuestros controles normales (tabla 30 y Fig. 15).

En las tablas 31 (el 2,3-DPG expresado en su concentración en forma mM) y 32 (el 2,3-DPG expresado como μ moles/g Hb) ofrecemos los resultados obtenidos del análisis estadístico del problema de la relación entre el 2,3-DPG (variable dependiente) y el resto de los parámetros bioquímicos estudiados (variables independientes) en este grupo de 44 enfermos.

Es evidente que la correlación más fuerte se establece entre el CaO_2 (ml %) y el 2,3-DPG (tanto al expresar los resultados en la forma mM, con una $p < 0.05$, y cuya representación gráfica aparece en la Fig. 16, como al expresarlos en forma de μ moles/g Hb, con una significación estadística en este caso de $p < 0.01$). El 2,3-DPG (en la forma de μ moles/g Hb, pero no en la forma mM) también se correlaciona con la Hb, el BUN, la pO_2 , el CO_3H^- y la SaO_2 ($p < 0.05$ en todos los casos) (tabla 32).

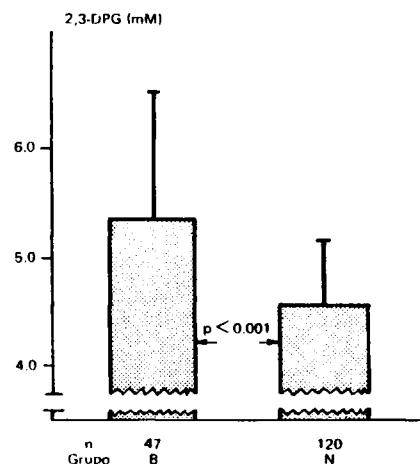


Fig. 15. Niveles medios de 2,3-DPG encontrados en 44 casos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Grupo B), estudiados en 47 ocasiones distintas, comparados con nuestros controles normales (Grupo N). Signos y abreviaturas como en la figura 3.

Tabla 31: Grupo B: Correlación del 2,3-DPG (mM) con el resto de los parámetros estudiados

y = 2,3-DPG (mM)		n	r	a	b	y = ax + b	P
x =	Edad (años)	47	0.1709	0.014	4.3	DPG = 0.014 E + 4.3	NS
	Hb (g %)	43	-0.2651	-0.129	7.4	DPG = -0.129 Hb + 7.4	NS
	Hcto (%)	47	-0.2736	-0.042	7.5	DPG = -0.042 Hcto + 7.5	NS
	CHCM (%)	43	0.1336	0.052	3.5	DPG = 0.052 CHCM + 3.5	NS
	P (mg %)	36	-0.1299	-0.249	6.4	DPG = -0.249 P + 6.4	NS
	G (mg %)	36	-0.0274	-0.001	5.7	DPG = -0.001 G + 5.7	NS
	BUN (mg %)	38	0.2174	0.019	4.9	DPG = 0.019 BUN + 4.9	NS
	K ⁺ (mEq/l)	33	0.2358	0.488	3.3	DPG = 0.488 K ⁺ + 3.3	NS
	pH (-)	47	0.2283	4.01	-24.2	DPG = 4.01 pH - 24.2	NS
	pO ₂ (mm Hg)	47	-0.1984	-0.015	6.1	DPG = -0.015 pO ₂ + 6.1	NS
	pCO ₂ (mm Hg)	47	0.0009	6.1 × 10 ⁵	5.2	DPG = 6.1 × 10 ⁵ pCO ₂ + 5.2	NS
	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	46	0.2502	0.044	3.9	DPG = 0.044 CO ₃ H ⁻ + 3.9	NS
	SaO ₂ (%)	46	-0.2213	-0.028	7.7	DPG = -0.028 SaO ₂ + 7.7	NS
	CaO ₂ (ml %)	42	-0.3520	-0.114	7.5	DPG = -0.114 CaO ₂ + 7.5	< 0.05

Tabla 32: Grupo B: Correlación del 2,3-DPG ($\mu\text{moles/g Hb}$) con el resto de los parámetros estudiados.

$y = 2,3\text{-DPG } (\mu\text{mol/g Hb})$	n	r	a	b	$y = ax + b$	P
$x =$ Edad (años)	43	0.1110	0.029	14.6	$\text{DPG} = 0.029 E + 14.6$	NS
Hb (g %)	43	-0.3259	-0.510	24.8	$\text{DPG} = -0.510 \text{ Hb} + 24.8$	< 0.05
Hcto (%)	43	-0.1349	-0.063	19.7	$\text{DPG} = -0.063 \text{ Hcto} + 19.7$	NS
CHCM (%)	43	-0.2741	-0.346	27.6	$\text{DPG} = -0.346 \text{ CHCM} + 27.6$	NS
P (mg %)	35	0.0563	0.341	15.7	$\text{DPG} = 0.341 P + 15.7$	NS
G (mg %)	33	0.0810	0.015	15.3	$\text{DPG} = 0.015 G + 15.3$	NS
BUN (mg %)	35	0.3775	0.106	14.0	$\text{DPG} = 0.106 \text{ BUN} + 14$	< 0.05
K^+ (mEq/l)	31	0.1759	1.1	12.2	$\text{DPG} = 1.1 \text{ K}^+ + 12.2$	NS
pH (-)	43	0.2041	11.0	-64.7	$\text{DPG} = 11 \text{ pH} - 64.7$	NS
pO_2 (mm Hg)	43	-0.3668	-0.082	21.3	$\text{DPG} = -0.082 \text{ pO}_2 + 21.3$	< 0.05
pCO_2 (mm Hg)	43	0.1104	0.022	15.2	$\text{DPG} = 0.022 \text{ pCO}_2 + 15.2$	NS
CO_3H^- (mEq/l)	42	0.3356	0.186	10.9	$\text{DPG} = 0.186 \text{ CO}_3\text{H}^- + 10.9$	< 0.05
SaO_2 (%)	42	-0.3471	-0.134	28.2	$\text{DPG} = -0.134 \text{ SaO}_2 + 28.2$	< 0.05
CaO_2 (ml %)	42	-0.4500	-0.473	25.6	$\text{DPG} = -0.473 \text{ CaO}_2 + 25.6$	< 0.01

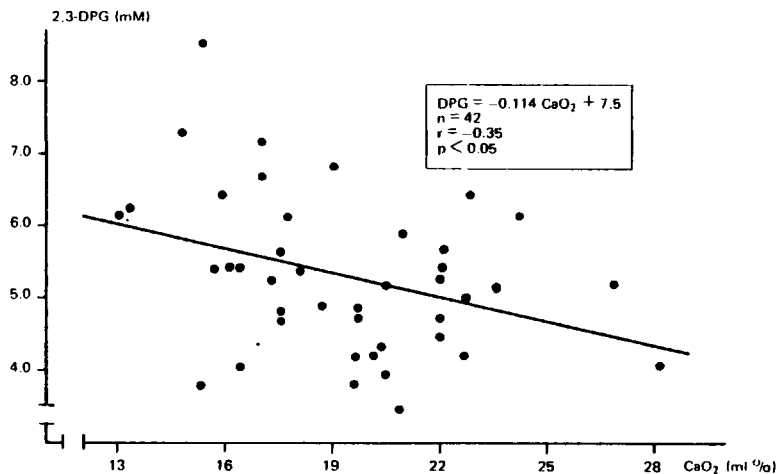


Fig. 16. Correlación entre el 2,3-DPG eritrocitario y el contenido arterial de oxígeno (CaO₂) en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En recuadro se expresan los mismos datos que en la figura 2.

G. INSUFICIENCIAS RENALES CRÓNICAS (GRUPO R)

Los resultados encontrados en el estudio de cada uno de los 30 enfermos (13 hombres y 17 mujeres), afectados de una insuficiencia renal crónica severa (IRC), se muestran en la tabla 33. En ella los 10 primeros casos corresponden a aquellos pacientes que, como referíamos en Material y Métodos, no estaban incluidos en ningún programa de hemodiálisis periódica y que habían ingresado en el Hospital a causa de una agudización de su proceso renal. Todos ellos tienen determinaciones de pH plasmático y gases respiratorios en sangre arterial. Los 20 enfermos restantes de esta tabla de datos corresponden a aquellos casos que sí figuraban en un programa de depuración extrarrenal y que estaban siendo dializados regularmente desde meses, a veces años, atrás. Los resultados que mostramos en la mencionada tabla son todos datos obtenidos de determinaciones en fase de prediálisis.

En la tabla 34 se resumen, en la forma acostumbrada, los hallazgos encontrados en el estudio de estos 30 casos. Al examinar esta tabla llama en primer lugar poderosamente la atención el que la tasa de Hb, que ha oscilado en estos enfermos entre 3.5 y 11.5 g %, el índice Hcto, que ha variado entre 14 y 37 %, y la CHCM, que lo ha hecho entre 22.5 y 36.1 %, muestran unos valores

Tabla 33: Hallazgos en enfermos con insuficiencia renal crónica.

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	pH	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	SeO ₂ (%)	CaO ₂ (ml %)	2,3-DPG (mM)	(μmol/g Hb)
1. MPG	55	F	6.7	21	31.9	6.2	82	145	4.1	7.29	85	22	13	-	-	6.20	19.44
2. JSM	77	F	11.1	34	32.6	6.3	100	142	5.5	7.26	111	23	12	97	14.7	5.02	15.40
3. FHR	58	F	7.8	27	28.8	7.2	150	108	3.3	7.28	102	21	10	96	10.3	4.55	15.78
4. ASA	65	M	8.0	26	30.7	5.6	122	137	4.4	7.34	76	31	18	93	10.2	5.73	18.63
5. JDG	49	F	8.8	27	32.5	8.0	141	107	4.7	7.29	92	40	19	96	11.6	5.73	17.59
6. PVV	78	F	8.4	24	35.0	8.1	210	224	2.6	7.35	114	22	12	97	11.2	6.86	19.60
7. RLA	74	F	7.6	25	30.4	6.3	105	126	6.7	7.33	113	23	13	97	10.2	5.78	19.01
8. JMG	49	F	9.1	28	32.5	5.3	173	113	2.6	7.34	81	49	25	96	11.9	6.20	19.08
9. RJS	78	F	10.1	32	31.5	3.8	116	46	4.3	7.41	54	43	27	89	12.2	6.72	21.29
10. HFR	65	F	11.5	33	34.8	4.9	129	76	5.0	7.32	81	45	21	95	14.8	5.17	14.83
11. AMA	30	F	3.5	14	25.0	3.5	-	128	5.4	-	-	-	22	-	-	8.22	33.85
12. ELO	35	M	6.5	24	27.0	4.1	-	245	6.2	-	-	-	24	-	-	6.72	24.81
13. CAL	65	F	6.5	18	36.1	4.1	-	158	4.8	-	-	-	20	-	-	7.14	19.78
14. SRE	55	M	6.5	24	27.0	5.5	-	162	5.4	-	-	-	15	-	-	6.72	24.81
15. JBA	46	M	5.6	20	28.0	4.6	-	172	6.2	-	-	-	22	-	-	8.13	29.03
16. NRA	29	F	4.9	17	28.8	3.5	-	192	4.6	-	-	-	17	-	-	7.09	24.62
17. JTO	43	M	7.5	25	30.0	6.1	-	172	6.2	-	-	-	28	-	-	7.80	17.68
18. BAR	43	M	1.6	16	22.5	2.3	-	190	5.0	-	-	-	27	-	-	7.56	33.63
19. MGI	49	F	9.4	37	25.4	2.9	-	176	6.5	-	-	-	22	-	-	9.49	37.37
20. CMP	31	F	4.9	18	27.2	2.7	-	130	5.0	-	-	-	27	-	-	7.70	28.31
21. JNU	46	M	4.7	17	27.6	2.5	-	278	7.0	-	-	-	23	-	-	7.84	27.23
22. CSM	50	M	5.2	19	27.3	3.4	-	183	6.3	-	-	-	19	-	-	7.33	26.79
23. CGO	47	F	4.9	17	28.8	5.1	-	215	5.9	-	-	-	20	-	-	7.05	24.45
24. CMA	46	F	7.8	26	30.0	3.4	-	140	5.2	-	-	-	24	-	-	6.67	22.24

Tabla 33 (Continuación)

Enfermo	Edad (años)	Sexo (M-F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	P (mg %)	G (mg %)	BUN (mg %)	K ⁺ (mEq/l)	pH	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	SeO ₂ (%)	CaO ₂ (ml %)	2,3-DPG (mM)	(μmol/g Hb)
25. MGA	52	M	6.5	21	30.9	2.3	-	150	6.3	-	-	-	22	-	-	6.62	21.41
26. AFE	48	M	7.5	26	28.8	3.6	-	174	6.5	-	-	-	21	-	-	6.81	23.62
27. CRI	50	F	4.9	16	30.6	2.8	-	204	5.4	-	-	-	19	-	-	6.86	22.40
28. FPL	59	M	8.3	29	28.6	2.3	-	155	3.4	-	-	-	20	-	-	7.00	24.46
29. MBA	23	M	7.3	25	29.2	3.6	-	128	4.6	-	-	-	19	-	-	4.80	15.77
30. PVI	56	M	6.5	26	25.0	4.5	-	96	5.7	-	-	-	16	-	-	4.41	17.67

Tabla 34: Resultados en el grupo de enfermos con insuficiencia renal crónica (Grupo R).

Grupo R

M = 13: Edad	Hb	Hcto	CHCM	P	G	BUN	K ⁺	pH	pO ₂	pCO ₂	CO ₃ H ⁻	SeO ₂	CaO ₂	2,3-DPG		
F = 17 (años)	(g %)	(%)	(%)	(mg %)	(mg %)	(mg %)	(mEq/l)	-	(mm Hg)	(mm Hg)	(mEq/l)	(%)	(ml %)	(mM)	(μmol/g Hb)	
n	30	30	30	30	30	10	30	30	10	10	10	30	9	9	30	30
Rango	23-78	3.5-11.5	14.37	22.5-36.1	2.3-8.1	82-210	46-278	2.6-7.0	7.26-7.41	54-114	21-49	10-28	89-97	10.2-14.8	4.41-9.49	14.83-37.37
\bar{x}	51.70	7.05	23.73	29.48	4.48	132	165	5.16	7.32	91	32	19.90	95	11.9	6.65	22.68
SD	14.40	2.03	5.86	3.12	1.68	37	49	1.16	0.04	19	11	4.83	2.6	1.7	1.17	3.72



medios (7.05 ± 2.03 g %, 23.73 ± 5.86 % y 29.48 ± 3.12 % para la Hb, el Hcto y la CHCM, respectivamente) muy por debajo de lo que habitualmente se acepta como normal; por ello, no es de extrañar que al establecer una comparación estadística entre estos datos y los valores medios propios de nuestros 120 controles normales, o incluso de los 40 casos de anemia simple, la diferencia sea (a excepción de la CHCM con la anemia) altamente significativa ($p < 0.001$) (tabla 35).

El P y el K^+ , que han oscilado entre amplios márgenes, debido a la heterogeneidad del grupo (de 2.3 a 8.1 mg % para el primero y de 2.6 a 7.0 mEq/l para el segundo), han mostrado unos valores medios (4.48 ± 1.68 mg % y 5.16 ± 1.16 mEq/l) que, como era de esperar, se sitúan por encima de las cifras que habitualmente se consideran como normales. El BUN, por definición, se ha encontrado elevado, con un nivel medio de 155 ± 49 mg % y extremos de 46 y 278 mg % . La G ha oscilado entre 82 y 210 mg % y su valor medio ha sido de 132 ± 37 mg % (tabla 34).

En los 10 casos en los que ha sido estudiado el pH plasmático y los gases respiratorios en sangre arterial sólo en 4 se ha podido evidenciar una clara situación de acidosis metabólica, con compensación respiratoria parcial (casos 1.º, 2.º, 3.º y 5.º de la tabla 33). En el resto, el pH plasmático puede ser considerado como normal, a pesar de coexistir con bicarbonatos séricos bajos, que han sido compensados gracias a la hiperventilación y a la eliminación del anhídrido carbónico. En efecto, el pH plasmático, que ha oscilado entre 7.26 y 7.41, ofrece un valor medio de 7.32 ± 0.04 , claramente en el límite inferior de la normalidad. La pCO_2 arterial, con unas cifras extremas de 21 y 49 mm Hg, sitúa su tasa media en 32 ± 11 mm Hg, es decir, netamente descendida, como expresión de la patente situación de hiperventilación y consiguiente hipocarbía.

La pO_2 arterial, que ha oscilado entre 54 y 114 mm Hg, muestra un valor medio de 91 ± 19 mm Hg, que puede considerarse como normal.

El bicarbonato plasmático, que ha variado entre 10 y 28 mEq/l, presenta una concentración media de 19.90 ± 4.83 mEq/l, algo por debajo de los límites normales y que es fiel exponente del trastorno del equilibrio ácido-base propio de estos enfermos.

La SaO_2 puede considerarse como normal tanto en su valor central (95 ± 2.6 %) como en los extremos (89 y 97 %).

El CaO_2 refleja nítidamente en los bajos niveles encontrados, tanto medios (11.9 ± 1.7 ml %) como extremos (10.2 y 14.8 ml %), la presencia, en este grupo de pacientes, de un evidente síndrome anémico (tabla 34).

El contenido eritrocitario en 2,3-DPG ha variado de forma importante de unos casos a otros. En efecto, con un valor medio de 6.65 ± 1.17 mM (22.68 ± 5.72 μ moles/g Hb), ha oscilado entre los límites de 4.41 y 9.49 mM (14.83 y 37.37 μ moles/g Hb) (tabla 34). Estos resultados son significativamente superiores ($p < 0.001$) a los obtenidos en el estudio del grupo de 120 controles normales (Fig. 17) e incluso a los objetivados en los 40 casos de anemia simple, aunque aquí con una significación estadística menor ($p < 0.005$) (tabla 35).

De la misma forma a como procedimos con el grupo de enfermos diagnosticados de cirrosis

Tabla 35: Comparación estadística entre los grupos R (insuficiencia renal crónica), A (anemia) y N (controles normales).

Insuficiencia renal crónica							
versus		Edad	Hb	Hcto	CHCM	2,3-DPG	
Anemia y Normales	n	(años)	(g %)	(%)	(%)	(mM)	(μ mol/g Hb)
Grupo R	30	51.7 \pm 14.4	7.05 \pm 2.03	23.73 \pm 5.86	29.48 \pm 3.12	6.65 \pm 1.17	22.68 \pm 5.72
Grupo A	40	37.3 \pm 20.7	10.07 \pm 1.72	32.92 \pm 5.10	30.77 \pm 3.37	5.79 \pm 1.02	19.22 \pm 4.27
Grupo N	120	28.0 \pm 15.6	14.29 \pm 1.61	43.74 \pm 4.20	32.64 \pm 1.89	4.54 \pm 0.57	13.98 \pm 2.05
Significación de la Diferencia	R VS N	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
	R VS A	$p < 0.005$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	NS	$p < 0.005$	$p < 0.01$

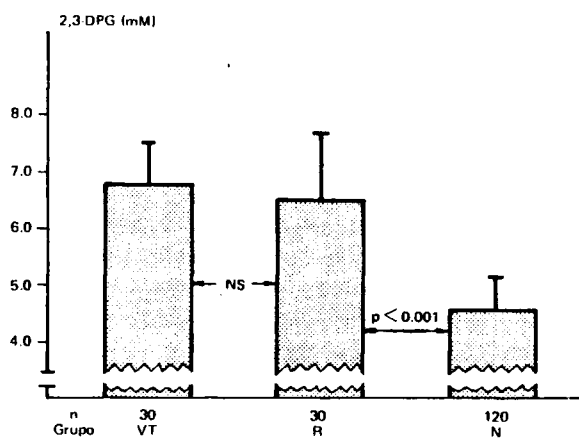


Fig. 17. Niveles medios de 2,3-DPG en 30 enfermos con insuficiencia renal crónica severa (Grupo R). En la columna de la izquierda se representa el valor teórico medio (VT) de 2,3-DPG, que les correspondería a estos enfermos por su grado de anemia. En la columna de la derecha se indican los valores de nuestros controles normales (Grupo N). Signos y abreviaturas como en la Fig. 3.

hepática hemos querido, aquí también, con los renales crónicos, establecer cuál es el grado de correspondencia entre su anemia y sus niveles intraeritrocitarios de 2,3-DPG, en comparación con los enfermos catalogados como afectados de anemia simple y a la vista de que en la IRC hay una manifiesta tendencia a la acidosis, alteración opuesta a la propia de los enfermos cirróticos (tabla 24). Para ello, hemos procedido de la misma manera que entonces. Es decir, nos hemos valido una vez más de la ecuación de la recta de regresión entre la Hb y el 2,3-DPG ($2,3\text{-DPG (mM)} = -0.34 \text{ Hg (g \%)} + 9.2$), que ya habíamos calculado como propia de los pacientes diagnosticados de anemia simple (grupo A) (tabla 9 y Fig. 6). En la citada ecuación hemos sustituido las cifras de la Hb (g %) de cada uno de los 30 enfermos renales crónicos, para obtener así, para cada uno de ellos, un valor teórico de 2,3-DPG (mM) para su grado de anemia. La media aritmética de todos estos valores teóricos (VT) así calculados ha sido de 6.80 ± 0.69 mM, que no difiere significativamente del valor medio real determinado en este grupo de enfermos (Fig. 17). Prácticamente se obtiene el mismo resultado si sobre la recta de la Fig. 6 llevamos el valor medio de la Hb de este grupo R (7.05 ± 2.03 g %) y proyectamos su intersección sobre el eje de las ordenadas. En resumen, podemos concluir que en estos pacientes con insuficiencia renal crónica (sólo 4 de ellos en

situación de acidosis metabólica y otros 20 incluidos en un programa de hemodiálisis periódica) la concentración intraeritrocitaria de 2,3-DPG real es la que cabría esperar como propia de su grado de anemia (Fig. 21).

En las tablas 36 (el 2,3-DPG expresado en su concentración en la forma mM) y 37 (el 2,3-DPG expresado como $\mu\text{moles/g Hb}$) se exponen los resultados obtenidos del estudio del problema de la relación estadística entre el 2,3-DPG (variable dependiente) y sucesivamente el resto de los parámetros bioquímicos analizados (variables independientes) en los 30 casos de IRC.

Entre las múltiples correlaciones existentes queremos destacar las que se establecen entre el 2,3-DPG (mM) y la Hb ($r = -0.4227$; $p < 0.05$), la CHCM ($r = -0.3509$; $p < 0.05$), el P ($r = -0.4592$; $p < 0.01$), el BUN ($r = 0.4973$; $p < 0.01$), el CO_3H^- ($r = 0.5358$; $p < 0.01$) y el pH ($r = 0.7251$; $p < 0.01$).

Estas dos últimas correlaciones se representan gráficamente en las Figs. 18 y 19 respectivamente. En la Fig. 19 el pH no ha sido transformado previamente a unidades de concentración de hidrogeniones. El error que con ello introducimos es mínimo. En efecto, el coeficiente de correlación que entre el 2,3-DPG (mM) y el pH era de 0.72 pasa a ser de -0.73 al considerar la concentración de iones hidrógeno (nM) en vez del pH, sin que con ello varíe la significación estadística ($p < 0.01$). Sin embargo, esta diferencia explica la anómala distribución de puntos con respecto a la recta de regresión en la mencionada figura.

Independientemente de los estudios efectuados en los 30 pacientes diagnosticados de IRC y cuyos resultados acabamos de exponer, hemos analizado, en 38 ocasiones, tal y como anticipábamos en Material y Métodos, otro grupo de 19 enfermos renales crónicos (8 hombres y 11 mujeres), todos ellos incluidos en un programa de hemodiálisis periódica. Cada uno de estos enfermos ha sido estudiado en dos ocasiones: una inmediatamente antes y otra después de una sesión de hemodiálisis, cuya duración ha sido diferente para cada enfermo y que ha variado entre 4 y 8 horas.

Los resultados obtenidos en este último protocolo de estudio se exponen en la tabla 38 y se resumen en la 39. En esta última los datos se expresan como media aritmética y desviación standard para cada uno de los parámetros hemáticos analizados y al considerar a las fases de pre y postdiálisis como independientes. Se incluye además la significación estadística para cada uno de ellos, resultado de la comparación de las dos fases mencionadas.

Se aprecia claramente cómo mientras que algunos valores como los del Hcto, el P, el CO_3H^- o el K^+ se modifican significativamente, en uno u otro sentido, esto no sucede con el resto (Hb, CHCM y 2,3-DPG), que apenas varían. Efectivamente, y por lo que respecta a la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG, se evidencia una discreta elevación desde 6.71 ± 1.27 mM (22.16 ± 4.20 $\mu\text{moles/g Hb}$) antes de la sesión de hemodiálisis hasta 6.76 ± 0.83 mM (24.12 ± 2.75 $\mu\text{moles/g Hb}$) después de ella, variación que no es estadísticamente valorable (tabla 39 y figura 20).

Tabla 36: Grupo R: Correlación del 2,3-DPG (mM) con el resto de los parámetros estudiados.

	y = 2,3-DPG (mM)	n	r	a	b	y = ax + b	P
x =	Edad (años)	30	-0.3048	-0.024	7.9	DPG = -0.024 E + 7.9	NS
	Hb (g %)	30	-0.4227	-0.243	8.3	DPG = -0.243 Hb + 8.3	< 0.05
	Hcto (%)	30	-0.3251	-0.065	8.2	DPG = -0.065 Hcto + 8.2	NS
	CHCM (%)	30	-0.3509	-0.132	10.5	DPG = -0.132 CHCM + 10.5	< 0.05
	P (mg %)	30	-0.4592	-0.321	8.0	DPG = -0.321 P + 8	< 0.01
	G (mg %)	10	0.2780	0.005	5.0	DPG = 0.005 G + 5	NS
	BUN (mg %)	30	0.4973	0.011	4.8	DPG = 0.011 BUN + 4.8	< 0.01
	K ⁺ (mEq/l)	30	0.3393	0.341	4.8	DPG = 0.341 K ⁺ + 4.8	NS
	pH (-)	10	0.7251	12.3	-84	DPG = 12.3 pH - 84	< 0.01
	pO ₂ (mm Hg)	10	-0.3013	-0.011	6.8	DPG = -0.011 pO ₂ + 6.8	NS
	pCO ₂ (mm Hg)	10	0.1969	0.012	5.3	DPG = 0.012 pCO ₂ + 5.3	NS
	CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	30	0.5358	0.130	4.0	DPG = 0.13 CO ₃ H ⁻ + 4	< 0.01
	SaO ₂ (%)	9	-0.3573	-0.104	15	DPG = -0.104 SaO ₂ + 15	NS
	CaO ₂ (ml %)	9	-0.2116	-0.091	6.8	DPG = -0.091 CaO ₂ + 6.8	NS

Tabla 37: Grupo R: Correlación del 2,3-DPG ($\mu\text{moles/g Hb}$) con el resto de los parámetros estudiados.

$y = 2,3\text{-DPG } (\mu\text{mol/g Hb})$	n	r	a	b	$y = ax + b$	P
$x =$ Edad (años)	30	-0.4275	-0.170	31.4	$\text{DPG} = -0.17 \text{ E} + 31.4$	< 0.05
Hb (g %)	30	-0.5556	-1.56	33.7	$\text{DPG} = -1.56 \text{ Hb} + 33.7$	< 0.001
Hcto (%)	30	-0.3507	-0.342	30.8	$\text{DPG} = -0.342 \text{ Hcto} + 30.8$	< 0.05
CHCM (%)	30	-0.7002	-1.28	60.5	$\text{DPG} = -1.28 \text{ CHCM} + 60.5$	< 0.001
P (mg %)	30	-0.5926	-2.02	31.7	$\text{DPG} = -2.02 \text{ P} + 31.7$	< 0.001
G (mg %)	10	0.0831	0.004	17.4	$\text{DPG} = 0.004 \text{ G} + 17.4$	NS
BUN (mg %)	30	0.4162	0.048	15.1	$\text{DPG} = 0.048 \text{ BUN} + 15.1$	< 0.05
K^+ (mEq/l)	30	0.3563	1.74	13.6	$\text{DPG} = 1.74 \text{ K}^+ + 13.6$	< 0.05
pH (-)	10	0.7328	35.6	-242	$\text{DPG} = 35.6 \text{ pH} - 242$	< 0.01
pO_2 (mm Hg)	10	-0.3729	-0.040	21.7	$\text{DPG} = -0.04 \text{ pO}_2 + 21.7$	NS
pCO_2 (mm Hg)	10	0.0840	0.015	17.5	$\text{DPG} = 0.015 \text{ pCO}_2 + 17.5$	NS
$\text{CO}_3 \text{H}^-$ (mEq/l)	30	0.4279	0.506	12.6	$\text{DPG} = 0.506 \text{ CO}_3 \text{H}^- + 12.6$	< 0.05
SaO_2 (%)	9	-0.4926	-0.408	56	$\text{DPG} = -0.408 \text{ SaO}_2 + 56$	NS
CaO_2 (ml %)	9	-0.5086	-0.622	25.3	$\text{DPG} = -0.622 \text{ CaO}_2 + 25.3$	NS

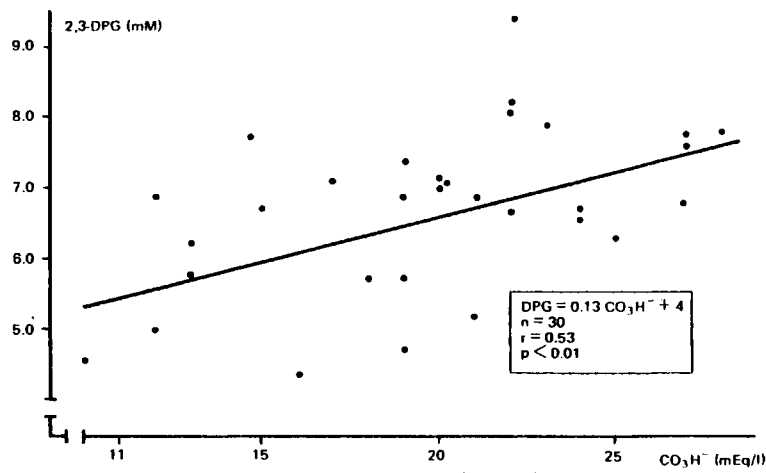


Fig. 18. Correlación entre la tasa de bicarbonato sérico (CO_3H^-) y el 2,3-DPG eritrocitario en la insuficiencia renal crónica. En recuadro se expresan los mismos datos que en la figura 2.

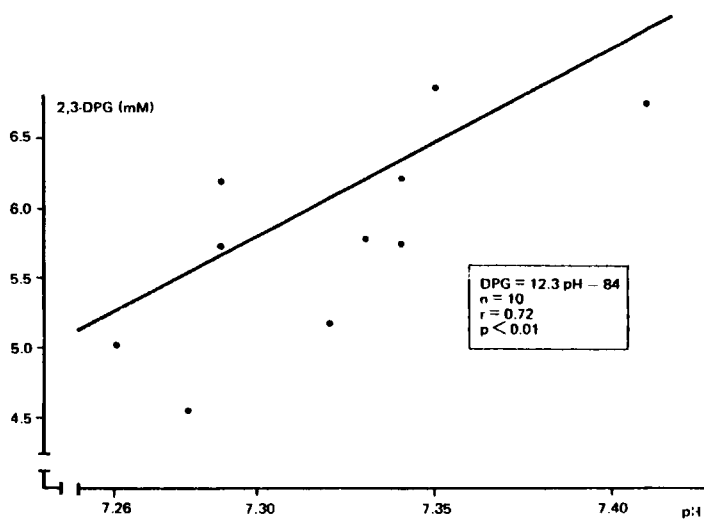


Fig. 19. Correlación entre el pH plasmático y el 2,3-DPG eritrocitario en la insuficiencia renal crónica. En recuadro se expresan los mismos datos que en la figura 2.

Tabla 38: Hallazgos en enfermos con insuficiencia renal crónica, incluidos en un programa de hemodiálisis periódica, en fases de pre y postdiálisis.

n = 7	BAR (M; 43 años)		FBA (M; 32 años)		JNU (M; 46 años)		ARO (F; 39 años)		NBE (M; 38 años)		FVE (F; 47 años)		LGO (M; 37 años)	
	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.
	Hb (g %)	7.5	8.9	7.5	8.4	5.7	6.5	—	—	—	—	—	—	—
Hcto (%)	23	27	23	26	18	22	16	18	13	14	17	25	18	21
CHCM (%)	32.6	32.9	32.6	32.3	31.6	29.5	—	—	—	—	—	—	—	—
P (mg %)	4.8	3.6	3.5	2.5	6.2	4.1	—	—	—	—	—	—	—	—
CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	19	21	16	18	16	20	—	—	—	—	—	—	—	—
K ⁺ (mEq/l)	—	—	—	—	—	—	6.1	3.6	6.7	3.0	5.1	3.2	5.1	2.8
2,3-DPG (mM)	7.33	7.80	6.48	7.42	7.70	7.80	5.73	5.96	5.31	6.01	7.05	6.81	4.70	6.34
2,3-DPG (μmol/g Hb)	22.48	23.66	19.89	24.34	26.40	—	—	—	—	—	—	—	—	—

n = 5	CCO (F; 40 años)		ERE (F; 24 años)		IBE (F; 61 años)		JPE (F; 36 años)		JLG (M; 29 años)	
	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.
	Hb (g %)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hcto (%)	19	19	17	17	15	21	29	33	15	19
CHCM (%)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
P (mg %)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
CO ₃ H ⁻ (mg %)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
K ⁺ (mEq/l)	5.3	3.7	4.4	2.7	5.7	3.3	5.2	3.8	6.8	3.1
2,3-DPG (mM)	6.90	7.70	5.54	6.15	5.54	6.48	6.15	6.67	4.93	5.40
2,3-DPG (μmol/g Hb)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabla 38 (Continuación)

n = 7	AMA		CAL		NRA		SRE		JBA		CMA		CMP	
	(F; 30 años)		(F; 65 años)		(F; 29 años)		(M; 55 años)		(M; 46 años)		(F; 46 años)		(F; 30 años)	
	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.	Pre.	Post.
Hb (g %)	5.6	5.2	7.2	6.2	7.8	6.2	7.8	8.3	7.2	7.2	6.8	8.8	7.5	7.8
Hcto (%)	12	18	15	22	22	--	27	32	26	28	23	28	23	24
CHCM (%)	46.6	28.8	48.0	28.1	35.4	--	28.8	25.9	27.6	25.7	29.5	31.4	32.6	32.5
P (mg %)	3.9	3.1	2.7	1.1	5.5	2.7	2.4	3.1	3.0	2.5	3.4	3.0	7.6	3.4
CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	19	22	21	20	15	19	17	21	18	21	15	22	16	19
K ⁺ (mEq/l)	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
2,3-DPG (mM)	8.27	6.48	7.14	5.68	9.11	6.62	6.29	6.20	7.66	7.52	6.90	6.90	8.93	8.55
2,3-DPG (μmol/g Hb)	17.72	22.45	14.88	20.17	25.21	--	21.80	23.91	27.66	29.24	23.36	21.98	27.38	26.32

Tabla 39: Resultados en el grupo de enfermos con insuficiencia renal crónica, incluidos en un programa de hemodiálisis periódica, en fases de pre y postdiálisis.

n = 19 pares M = 8 – F = 11		Prediálisis	Postdiálisis	n	Significación
Hb (g % _o)	7.10 ± 0.82	7.35 ± 1.27	10	NS	
Hcto (% _o)	19.38 ± 5.00	23.00 ± 5.25	18	p < 0.05	
CHCM (% _o)	34.53 ± 7.10	29.67 ± 2.77	9	NS	
P (mg % _o)	4.30 ± 1.68	2.91 ± 0.80	10	p < 0.05	
CO ₃ H ⁻ (mEq/l)	17.20 ± 1.98	20.30 ± 1.33	10	p < 0.001	
K ⁺ (mEq/l)	5.60 ± 0.79	3.24 ± 0.39	9	p < 0.001	
2,3-DPG (mM)	6.71 ± 1.27	6.76 ± 0.83	19	NS	
2,3-DPG (μmol/g Hb)	22.16 ± 4.20	24.12 ± 2.75	9	NS	

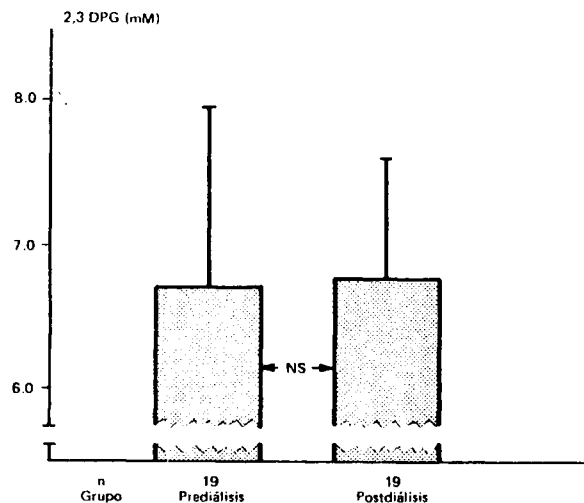


Fig. 20. Niveles medios de 2,3-DPG eritrocitario encontrados en 19 enfermos renales crónicos severos e incluidos en programa de hemodiálisis periódica, en fases de pre y postdiálisis. Signos y abreviaturas como en la figura 3.

H. LA RELACION ENTRE LA HEMOGLOBINA Y EL 2,3-DPG EN EL CONJUNTO DE LOS ENFERMOS ESTUDIADOS

Queremos incluir en este apartado final de nuestros Resultados la relación, que se puede demostrar estadísticamente, entre la hemoglobina y el 2,3-DPG intraeritrocitario, al considerar como un grupo único al conjunto de todos aquellos sujetos estudiados, tanto sanos como enfermos, en los que se había determinado la tasa de hemoglobina circulante. En la Fig. 21 se representa gráficamente esta relación en el total de los 413 casos que cumplen esta premisa. Se aprecia un elevado coeficiente de correlación ($r = -0.5228$), con una notable significación, desde el punto de vista estadístico ($p < 0.001$). Es interesante hacer resaltar la posición relativa con respecto a la recta de regresión ($DPG \text{ (mM)} = -0.21 \text{ Hb (g \%)} + 8.4$) de los diferentes tipos de enfermos, tal y como se indica en el pie de la figura. Por ejemplo, es característica la situación de los enfermos hipertiroideos y sobre todo la de los cirróticos, muy por encima de la recta, es decir, con unos niveles de 2,3-DPG superiores a los que les corresponderían por su tasa de hemoglobina.

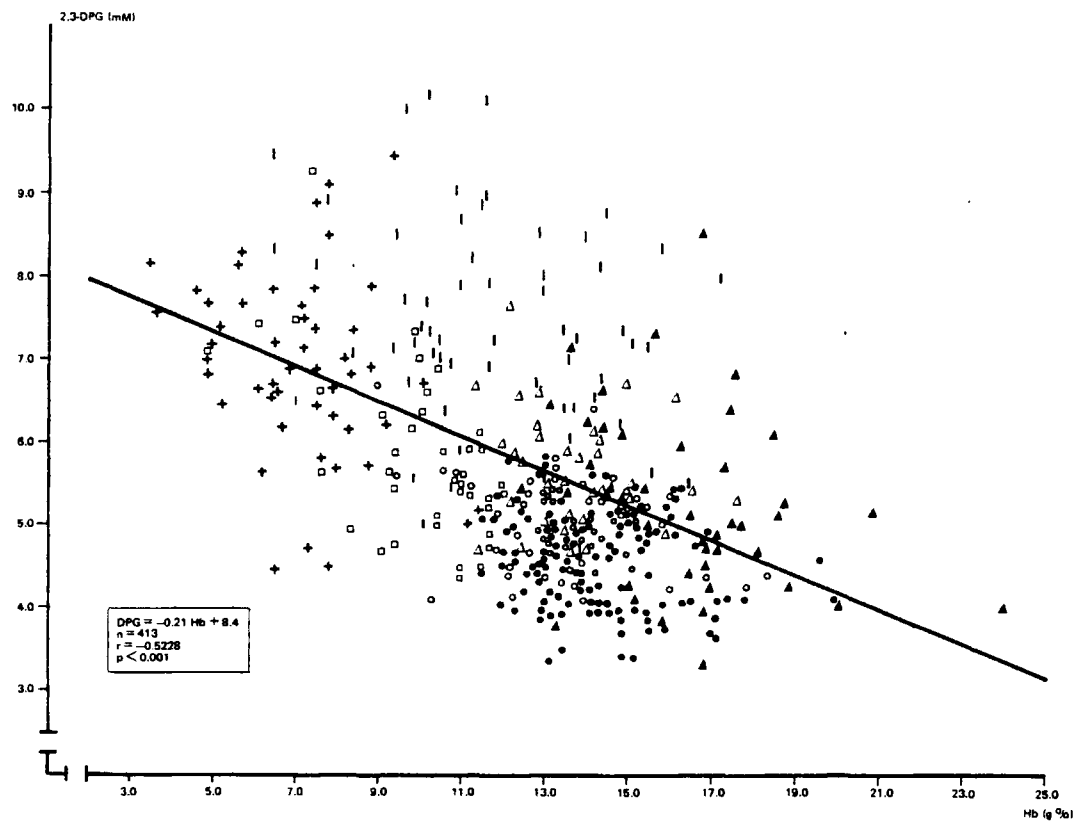


Fig. 21. Correlación entre el 2,3-DPG eritrocitario y la tasa de Hb circulante en todos los sujetos estudiados, tanto sanos como enfermos, considerados como un grupo único. Obsérvese cómo los sujetos normales (●) se sitúan, en general, por debajo de la recta de regresión, lo mismo que los enfermos tiroideos normo e hipofuncionales (○). Los enfermos cirróticos (†), por el contrario, se localizan muy por encima de la recta, aunque más dispersos. Los renales crónicos (+), con mayor grado de anemia, se disponen hacia la izquierda, mientras que los enfermos pulmonares crónicos (▲), en general poliglobúlicos, lo hacen hacia la derecha de la figura. Los enfermos hipertiroideos (△) se encuentran centrados en la gráfica, pero en general por encima de la recta de regresión. Los enfermos anémicos (◊) se localizan a la izquierda, preferentemente sobre la recta. En recuadro se indican los mismos datos que en la figura 2.

DISCUSION Y COMENTARIOS

A. Del método empleado

B. De los resultados obtenidos

A. DEL METODO EMPLEADO

Para la determinación del 2,3-DPG intraeritrocitario hemos seguido el método del ácido cromotrópico (4,5-dihidroxi-2,7-naftaleno sulfónico), tal y como fue inicialmente desarrollado por Bartlett (21) en 1959; hemos adoptado, sin embargo, las modificaciones específicas para el análisis de muestras de sangre introducidas por Eaton et al. (75) en 1970. Hemos escogido la técnica de Bartlett (21) por su economía y su relativa sencillez; es cierto, no obstante, que se trata de un procedimiento laborioso y que exige largos períodos de tiempo —de cuatro a cinco horas, al menos, por ensayo— para su completa ejecución. En nuestras manos, después de casi cinco años de pruebas y más de doscientas curvas-patrón, ofrece resultados fielmente reproducibles y muy precisos. En efecto, la calidad del método se demuestra cuando se estudian los datos obtenidos al determinar algunos de los criterios de variabilidad analítica, como pueden ser, justamente, la reproductibilidad y la precisión.

La reproductibilidad de la técnica ha sido estimada por dos procedimientos distintos. Hemos distinguido entre una reproductibilidad intraensayo —la que se establece para la misma muestra analizada por duplicado en el mismo ensayo— y una reproductibilidad interensayo —la que se establece para la misma muestra analizada en ensayos diferentes, pero sucesivos—. Los coeficientes de variación para cada uno de estos dos tipos de procedimientos han sido de 2.72 % y de 4.38 %, para 100 y 50 muestras distintas, respectivamente. Ambos coeficientes son perfectamente compatibles con el error experimental. Tal y como era de esperar, la variabilidad interensayo es algo superior a la intraensayo. Nuestros resultados a este respecto son comparables a los obtenidos por Teunissen et al. (231).

La precisión del método del ácido cromotrópico es también considerable. El coeficiente de variación al que hemos llegado, después de dosificar en 30 ocasiones distintas y sucesivas dos soluciones de concentraciones conocidas de 2,3-DPG (25 y 37.5 μM respectivamente), ha sido de 2.69 %. Hemos elegido estas dos concentraciones para la estimación de la precisión de la técnica porque son, precisamente, las que coinciden con las de los tubos cuarto y sexto de la curva-patrón, como se puede apreciar en la tabla 2. La mayor parte de los resultados que hemos obtenido al dosificar el 2,3-DPG en extractos-problema muestran una absorbancia que oscila entre 0.15 y 0.22, que es la que corresponde justamente a tales tubos y, por lo tanto, a un contenido eritrocitario real de 2,3-DPG variable desde 4.70 hasta 7.05 mM. Entre estos límites, como hemos podido comprobar a lo largo del capítulo anterior, está comprendida la gran mayoría de nuestros resultados. Según Teunissen et al. (231) —quienes encuentran, al estimar la precisión de la técnica, un coeficiente de variación de 2.4 %, similar por lo tanto al nuestro de 2.69 %— el método

colorimétrico de Bartlett (21) es, incluso, más exacto que los enzimáticos, los cuales, por otra parte, son mucho más engorrosos, delicados y, además, relativamente costosos (17).

La sensibilidad de la técnica del ácido cromotrópico, aunque buena, es inferior a la que ofrecen los diversos procedimientos enzimáticos (231); su especificidad también es algo menor, hecho que nos explica por qué los valores obtenidos con la primera son ligeramente más elevados que los que se objetivan con los segundos (79). Sin embargo, ya que el 2,3-DPG se encuentra a una concentración unas trescientas veces superior a la de los otros fosfogliceratos en el hematíe, este pequeño defecto de especificidad puede despreciarse sin que por ello incurramos en un significativo error (21, 123). Como conclusión podemos afirmar que el método colorimétrico de Bartlett (21) y los diversos procedimientos enzimáticos (59, 79, 106, 110, 123, 131, 132, 146, 159, 235) son, en general, comparables desde el punto de vista cualitativo, ya que no existen entre ellos diferencias importantes, en cuanto a las variables analíticas, a la hora de dosificar el 2,3-DPG (231).

Desde el punto de vista del manejo sistemático de la técnica es conveniente hacer una serie de consideraciones de orden práctico, al objeto de mejorar la calidad y la fiabilidad de los resultados y de evitar fuentes de error extrañas al método en sí.

Es recomendable que el anticoagulante utilizado sea la heparina, ya que otras sustancias pueden añadir color al medio reactivo e interferir, por lo tanto, en la lectura a 690 nm, de la densidad óptica (44, 75, 201). La sangre, así recogida, puede conservarse en nevera a 4° C durante dos ó tres horas sin que la tasa de 2,3-DPG varíe de forma apreciable en este tiempo; no es, pues, imprescindible la desproteínización inmediata de la muestra de sangre (44, 231); sin embargo, una vez que ésta se ha efectuado, el extracto del líquido sobrenadante es estable durante varios meses si se guarda a 4° C (59, 79, 106). Los hematíes han de ser lavados con suero salino isotónico helado; es muy conveniente, también, que las sucesivas centrifugaciones se hagan en frío, con centrifuga refrigerada a 4° C, ya que el calor degrada rápidamente al 2,3-DPG.

Es extremadamente importante seguir las recomendaciones que hacíamos en el capítulo de Material y Métodos para medir, y obtener así, 1 ml exacto de auténticos eritrocitos con la menor proporción posible de agua: el último centrifugado debe de efectuarse a 3,000 g, durante 15 minutos al menos; es conveniente eliminar el líquido sobrenadante mediante una pipeta Pasteur, arrastrando incluso las capas superiores de hematíes, es decir, las que se encuentran en estrecho contacto con el agua; los glóbulos rojos deben de extraerse del fondo del tubo de ensayo, utilizando para ello, además, una pipeta siliconada. Para comprobar hasta qué punto conseguimos en nuestros ensayos 1 ml de eritrocitos concentrados ("packed cells") hemos determinado su índice Hcto en 60 muestras consecutivas. En todos los casos el Hcto fue superior al 85 % y en todos, menos en siete, al 90 %; el valor medio ha sido de 93.78 ± 3.59 %. La escasa proporción de agua "libre" de este mililitro queda así demostrada e ilustra la veracidad del concentrado de hematíes. Ello es un dato más a favor de la fiabilidad de los resultados. Sorprende, quizás, inicialmente el hecho de que exista una correlación significativa, desde el punto de vista estadístico

($r = 0.3701$; $n = 60$; $p < 0.01$; $PC = 0.13$ HO – 88), entre el Hcto de cada muestra del concentrado de células rojas y el Hcto de la sangre total del que aquél procede (tabla 1). La explicación creemos que es la siguiente: los concentrados con Hctos más bajos derivan de aquellas muestras originales con Hctos también menores; en tales muestras, es mucho más problemático, a partir de los 5 a 10 ml de la extracción venosa, obtener 1 ml de hematíes puros, ya que la proporción de masa roja es más pequeña y, por lo tanto, mucho más difícil de manejar al medir el mililitro de células; por ello es casi inevitable arrastrar una proporción algo mayor de agua. Por este motivo es muy conveniente –es la conclusión de esta experiencia– que en los enfermos con anemia, o simplemente con Hctos bajos, el volumen de la muestra de sangre venosa que se extrae del paciente sea, por lo menos, de 10 ml, para que pueda así ser procesada sin dificultad alguna. De esta forma evitaremos incurrir en un error experimental totalmente ajeno a las características propias del método de Bartlett (21).

La precipitación de los hematíes ha sido efectuada con ácido tricloroacético (TCA) al 10 %, a una temperatura entre 0° y 4° C y en la proporción de 1 ml de los primeros por 4 ml del segundo. En este aspecto seguimos las recomendaciones de otros autores (75, 201, 202). Es muy aconsejable que una vez que se ha añadido el TCA a la masa de células rojas se proceda a agitar vigorosamente el tubo de ensayo durante un par de minutos; con ello se evita que una parte de las proteínas permanezca en la superficie del medio líquido y se asegura, por lo tanto, que la precipitación sea más completa. Posteriormente, la mezcla ha de permanecer en reposo durante algún tiempo; nosotros hemos esperado unas 24 horas –colocando el tubo de ensayo en nevera a 4° C– antes de proceder a la separación del extracto final del precipitado. De este modo se contribuye también a que la desproteínización sea más homogénea (59, 231). El extracto libre de proteínas puede ser conservado de forma estable, como ya hemos dicho anteriormente, durante varios meses –tres, por lo menos, según nuestras experiencias–, sin que se objetive un descenso apreciable en la concentración del 2,3-DPG, si se toma la precaución de guardarlo refrigerado a 4° C (79, 106, 201).

En la Fig. 2 y en la tabla 2 se muestra la recta de ajuste o recta “standard” construida sobre la base de las doscientas curvas-patrón que hemos realizado. Cada muestra-problema o serie de muestras-problema ha sido leída y comparada siempre –sistemáticamente por duplicado– con una curva-patrón, efectuada simultáneamente en el mismo ensayo, y nunca con la recta “standard”, lo que indudablemente creemos que tiene que haber aumentado la precisión de la técnica. Esta última recta nos ha servido, sin embargo, para comprobar, una vez más, la calidad del método y la reproductibilidad de sus resultados. Basta a tal efecto con valorar datos tales como la pequeña magnitud de la SD y de la SEM de cada uno de los ocho puntos (tabla 2), el elevado coeficiente de correlación de la recta ($r = 0.9630$) con su notable significación estadística ($p < 0.001$) ó el hecho de que la ordenada en el origen de la ecuación de regresión ($A_{60,8} = 1.46$ DPG + 0.00) sea igual a cero, lo que equivale a decir que dicha recta pasa por el origen de coordenadas (Fig. 2).

La reproductibilidad de la curva-patrón depende de una serie de factores individuales (21, 201, 231). Por un lado, el ácido sulfúrico que utilizemos conviene que sea de una gran pureza; la solución de ácido cromotrópico ha de ser totalmente transparente y debe de prepararse inmediatamente antes de ser usada. Por otra parte, el tiempo de incubación de los tubos de ensayo en el baño de agua a 100° C nunca será inferior, de acuerdo con las recomendaciones de Eaton et al. (75), a los 135 minutos, para asegurar así una hidrólisis completa; debe de procurarse que la temperatura del baño se mantenga constante durante todo el tiempo que dure la experiencia. Finalmente, conviene recordar que el complejo coloreado formado después de la incubación a 100° C es algo inestable; se ha calculado que las absorbancias a 690 nm disminuyen un 0.5 % del valor inicial por cada diez minutos de retraso en la realización de la lectura espectrofotométrica (231). La falta de atención cuidadosa a cada uno de los puntos enumerados puede ser el origen de resultados engañosos e inexactos.

En la curva-patrón la linealidad entre las absorbancias a 690 nm y las concentraciones de 2,3-DPG en la cubeta de ensayo es muy buena hasta que se alcanza la tasa correspondiente a un nivel eritrocitario de 5 mM (231). Bartlett (21) obtuvo una lectura espectrofotométrica de 0.28 para un contenido total de 0.2 micromoles de 2,3-DPG en la cubeta. Nosotros, para ese mismo contenido del glicerofosfato en el ensayo, hemos encontrado un valor medio de densidad óptica, para las 200 curvas-patrón, de 0.288 ± 0.030 (tabla 2).

La solución patrón 1 mM de la sal de pentaciclohexilamonio cristalizada de 2,3-DPG, necesaria para la preparación de los ocho "standards" de cada curva, es estable durante varios meses si se conserva en nevera a 4° C (201, 231); este hecho también ha sido repetidamente comprobado por nosotros con diversas muestras almacenadas por períodos de tiempo superiores, incluso, a los seis meses.

B. DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

1. Sujetos sanos (Grupo N)

Los niveles de 2,3-DPG eritrocitario que hemos encontrado en nuestros 120 controles normales (grupo N, integrado por 60 hombres y 60 mujeres), todos ellos con tasas de Hb y de Hcto por encima de 11.5 g % y de 35 % respectivamente, han oscilado entre 3.29 y 5.87 mM (10.04 y 18.74 μ moles/g Hb), con un nivel medio de 4.54 ± 0.57 mM (13.98 ± 2.05 μ moles/g Hb) (tabla 5). En la tabla 40 reseñamos cuáles son los valores normales que han obtenido 35 grupos de investigadores después de que hubieron estudiado un número variable de controles sanos. En dicha tabla se puede comprobar cómo, aunque el número total de casos recogidos en cualquiera de esos trabajos es muy inferior, en general, al nuestro, los valores son perfectamente superponibles. Como ejemplos más representativos al respecto queremos mencionar los resultados de algunos autores. Alberti et al. (8) refieren, para 22 casos, un nivel medio de 4.50 ± 0.48 mM; Arnaud et al. (10) encuentran para 21 una tasa de 4.44 ± 0.48 mM; García Barreno (89, 93) objetiva para 44 un valor medio de 3.99 ± 0.13 mM; Hamasaki et al. (103) demuestran para 50 un contenido eritrocitario medio de 4.89 ± 0.46 mM; Leroux y Najman (134) comprueban para 30 una concentración media de 4.58 ± 0.86 mM; Miller et al. (147) llegan, después de haber estudiado aproximadamente a unos 100 casos, a un nivel medio de 4.2 ± 0.4 mM; Monti (152) evidencia, para 24 sujetos sanos, un valor medio de 4.88 ± 0.4 mM; finalmente, entre nosotros, Sánchez Varela (201, 202) ha encontrado, para 30 casos, una tasa media de 4.51 ± 0.39 mM. Podríamos haber citado datos y ejemplos parangonables si hubiésemos utilizado, al expresar los resultados, el sistema de unidades "moles/g Hb", que también ha sido empleado por nosotros, tal y como aparece reflejado en su respectiva columna en cada una de las diversas tablas.

La influencia del sexo sobre la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG es un tema que ha sido muy poco estudiado y que continúa sujeto a discusión. En la tabla 40 también hemos hecho mención de este aspecto —diferencias de valores entre ambos sexos— cuando en la publicación original se habían clasificado los resultados asimismo con referencia a este punto de vista. Nosotros no hemos encontrado diferencias significativas, en cuanto al contenido en 2,3-DPG de los hematíes, entre hombres (grupo N1: 4.48 ± 0.57 mM) y mujeres (grupo N2: 4.60 ± 0.57 mM) (tabla 5 y Fig. 3), a pesar de que sí existía tal diferencia, entre ambos grupos, en cuanto a la Hb y el Hcto ($p < 0.001$). En este sentido, nuestros resultados concuerdan con los de algunos autores (75, 106, 110), pero discrepan de los de otras publicaciones (41, 42) en las que, por el contrario, se demuestran unos valores superiores del fosfoderivado en las mujeres en comparación con los de

TABLA 40: Concentraciones normales de 2,3-DPG eritrocitario según los trabajos de diversos autores de la literatura. En cada cita bibliográfica se menciona el número de sujetos estudiados (n), así como, si son especificados en la publicación original, la edad, el sexo y los niveles de Hb, Hcto y CHCM para cada grupo de casos. Los valores que se indican son la media aritmética \pm la desviación standard. Ocasionalmente, se expresan los valores extremos (\leftrightarrow).

Autor	n	Edad (años)	Sexo (M - F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	(μ moles/g Hb)	(moles/mol Hb)
1. Alberti et al., 1972 (8)	22	-	M + F	-	-	-	4.50 \pm 0.48	-	-
	10	-	M	-	-	-	4.78 \pm 0.33	-	-
	12	-	F	-	-	-	4.31 \pm 0.45	-	-
2. Arnaud et al., 1978 (10)	21	-	M + F	-	-	-	4.44 \pm 0.48	-	-
3. Astrup y Rorth, 1973 (15)	12	-	F	-	-	-	-	-	0.927 \pm 0.066
4. Arturson et al., 1974 (16)	12	-	M	14.7 \pm 0.7	43.7 \pm 1.7	33.6 \pm 1.0	4.67 \pm 0.35	-	-
	15	-	F	13.0 \pm 0.9	40.0 \pm 2.4	32.5 \pm 0.8	5.08 \pm 0.49	-	-
5. Brewer, 1974 (41)	26	40.3 \pm 12.9	M	16.05 \pm 1.35	45.6 \pm 2.5	35.1 \pm 1.9	-	14.13 \pm 1.84	-
6. Denis et al., 1977 (63)	12	25 \leftrightarrow 50	M + F	14.9 \pm 0.9	45 \pm 2	-	-	-	0.96 \pm 0.13
7. Dickerman et al., 1973 (64)	52	-	M + F	-	-	-	-	15.2 \pm 1.50	-
	26	-	M	15.67 \pm 0.65	-	-	-	14.7 \pm 1.20	-
	26	-	F	13.97 \pm 0.91	-	-	-	15.7 \pm 1.63	-
8. Ditzel et al., 1973 (69)	54	25.0	M + F	13.7 \pm 1.05	-	-	-	14.4 \pm 1.56	-
	49	9.6	M + F	13.1 \pm 0.44	-	-	-	13.9 \pm 1.31	-
9. Ditzel y Standl, 1975 (72)	15	-	M + F	-	-	-	-	14.40 \pm 1.28	-
10. Eaton et al., 1970 (75)	20	-	M	15.43 \pm 0.68	-	-	-	12.80 \pm 2.32	-
	20	-	F	13.51 \pm 0.68	-	-	-	13.56 \pm 2.62	-
11. Ericson y De Verdier, 1972 (79)	20	-	M	-	-	-	4.88 \pm 0.46	-	-
12. García Barreno, 1974 (89, 93)	44	17 \leftrightarrow 56	M + F	-	-	-	3.99 \pm 0.13	-	-
13. Hamasaki et al., 1974 (103)	50	-	-	-	-	-	4.89 \pm 0.46	-	-
14. Hedelin y Lundberg, 1973 (106)	92	50	M	-	-	-	-	-	0.76 \pm 0.10

Tabla 40 (Continuación)

Autor	n	Edad (años)	Sexo (M - F)	Hb (g %)	Hcto (%)	CHCM (%)	2,3-DPG (mM)	(μ moles/g Hb) (moles/mol Hb)
	24	20 ↔ 25	M	-	-	-	-	0.80 ± 0.10
	11	20 ↔ 25	F	-	-	-	-	0.85 ± 0.17
15. Hellerstein et al., 1970 (110)	27	18 ↔ 43	M + F	-	-	-	-	10.56 ± 1.97
	13	18 ↔ 43	M	-	-	-	-	10.69 ± 1.58
	14	18 ↔ 43	F	-	-	-	-	10.44 ± 2.29
16. Hjelm y Wadman, 1974 (112)	29	18 ↔ 58	F	-	-	32.8 ± 1.01	4.82 ± 0.60	-
17. Lappin et al., 1973 (131)	20	-	M	-	-	-	4.07 ± 0.68	-
	20	-	F	-	-	-	4.19 ± 0.53	-
18. Leroux y Najman, 1971 (134)	30	-	-	-	-	-	4.58 ± 0.86	-
19. Lichtman y Miller, 1970 (135)	16	-	-	-	45 ± 1.5	-	4.19 ± 0.4	-
20. Miller et al., 1970 (147)	≈ 100	-	-	-	-	-	4.2 ± 0.4	-
21. Miller et al., 1974 (148)	30	18 ↔ 35	-	14.5 ± 2.0	44 ± 5	33.5 ± 1.5	-	12 ± 1.2
22. Miller et al., 1970 (149)	20	-	-	-	-	-	4.10 ± 0.47	-
23. Monti, 1974 (152)	24	16 ↔ 45	13M + 11F	14.4 (11.6 ↔ 16.6)	-	-	4.88 ± 0.4	-
	11	-	F	-	-	-	5.00 ± 0.4	-
24. Nygaard y Rorth, 1969 (159)	14	-	M	13.9 ± 0.9	-	-	3.81 ± 0.62	-
	14	-	F	12.7 ± 1.2	-	-	4.09 ± 0.32	-
25. Opalinski y Beutler, 1971 (161)	13	-	-	-	45.4 (40 ↔ 49)	-	-	15.03 (13.6 ↔ 16.2)
26. Oski et al., 1969 (162)	20	-	-	-	-	-	4.08 ± 0.51	-
27. Oski et al., 1970 (163)	15	-	-	-	-	-	4.10 ± 0.47	-
28. Palek et al., 1969 (166)	-	-	-	-	-	-	4.48 ± 0.50	-
29. Palenciano et al., 1978 (167)	11	47 ± 5	M	-	46 ± 2	-	-	13.84 ± 1.12
30. Pearson et al., 1977 (169)	-	-	M	16 ± 2	-	-	4.8 ± 0.3	-
	-	-	F	14 ± 2	-	-	5.3 ± 0.4	-

Tabla 40 (Continuación)

Autor	n	Edad	Sexo	Hb	Hcto	CHCM	2,3-DPG		
		(años)	(M - F)	(g %)	(%)	(%)	(mM)	(μ moles/g Hb)	(moles/mol Hb)
31. Rodríguez y Shahidi, 1971 (185)	10	4 ↔ 14	-	-	37 ± 4	33.5 ± 2.0	5.09 ± 0.53	-	-
32. Rorth et al., 1972 (193)	6	22 ± 2	M	-	-	-	-	-	0.82 ± 0.06
33. Sanchez Varela et al., 1975 (201, 202)	30	20 ↔ 40	M + F	12.5 ↔ 18.0	43 ± 2.9	-	4.51 ± 0.39	13.6 ± 1.4	-
34. Travis et al., 1978 (237)	15	-	-	-	-	-	4.42 ± 0.92	-	-
35. Valeri y Fortier, 1969 (244)	10	-	M	-	-	-	-	12.4 ± 1.0	-
36. Nosotros, 1980	120	28.0 ± 15.6	M + F	14.29 ± 1.61	43.74 ± 4.20	32.64 ± 1.89	4.54 ± 0.57	13.98 ± 2.05	-
	60	28.4 ± 16.5	M	15.07 ± 1.69	45.71 ± 4.67	32.96 ± 2.02	4.48 ± 0.57	13.67 ± 2.03	-
	60	27.6 ± 14.8	F	13.51 ± 1.05	41.76 ± 2.41	32.33 ± 1.70	4.60 ± 0.57	14.29 ± 2.03	-

los hombres; de ser cierto este último supuesto su explicación tendría que ser buscada en las diferencias que presentan ambos sexos en cuanto a la tasa de Hb circulante. Las mujeres, con una masa eritrocítica menor a la de los hombres, necesitarían, para equilibrar la oferta de oxígeno a los tejidos, unos niveles de 2,3-DPG algo más elevados que los del varón (75). Esta hipótesis, lejos de haber sido demostrada de forma concluyente, ha sido rebatida por diversos trabajos (75, 106, 110). Nuestros resultados a este respecto estarían más de acuerdo con estos últimos estudios; según ellos, dos explicaciones serían posibles: o bien las pequeñas diferencias que normalmente existen para la tasa de Hb periférica entre ambos sexos no alcanzarían una magnitud suficiente como para repercutir sobre la concentración del fosfoéster, o bien la mujer, con menores necesidades celulares de oxígeno que las del hombre, adaptaría las dos variables —la Hb y el 2,3-DPG— a una nueva situación, asimismo estable, pero a un nivel homeostático inferior al del varón y en el que no sería necesario el mecanismo compensador del fosfoglicerato (44, 75).

En nuestro grupo de 120 controles normales (grupo N) también hemos clasificado los resultados desde el punto de vista de la edad de los sujetos. Hemos distinguido entre un grupo J (2,3-DPG = 4.46 ± 0.56 mM), en el que se incluyen todos aquellos casos con menos de 24 años, y un grupo V (2,3-DPG = 4.61 ± 0.57 mM), que comprende todos aquellos otros con una edad superior a aquella (tabla 5 y Fig. 4). Tampoco aquí hemos encontrado diferencias entre ambos grupos, a pesar de que sí las había para el Hcto y la CHCM ($p < 0.001$); esta última circunstancia es la que puede explicar por qué se establecen variaciones, en cuanto al 2,3-DPG, cuando éste se expresa en forma de "μmoles/g Hb". En este sentido, nuestros resultados —nuevamente aquí— coinciden con los de bastantes autores (13, 23, 25, 106, 162, 182, 206, 239), pero discrepan de los de algunos otros (24, 41, 242), que mantienen, por el contrario, que los niveles del 2,3-DPG en los niños son superiores a los de los adultos. Se ha sugerido que la actividad metabólica del hematíe descendería gradualmente a medida que envejece el organismo. También se ha pensado en la posibilidad de que la hiperfosfatemia fisiológica de la infancia pudiera ser el origen de la pequeña elevación en el fosfoglicerato que, eventualmente, puede aparecer en los niños. Sería entonces, en esta situación, como consecuencia de la menor afinidad de la Hb por el oxígeno, donde se produciría una disminución en la formación y en la liberación de la eritropoyetina, lo que, en definitiva, daría lugar a una reducción de la masa eritrocítica corporal total; esto podría explicarnos por qué la Hb y el Hcto son algo menores en el sujeto joven, hasta su adolescencia, que en el adulto (24), hecho que también ha sido comprobado por nosotros en el presente trabajo (tabla 5).

Algunos estudios (19, 42, 44, 75) apoyan la hipótesis de que, aún dentro de las pequeñas variaciones que en la concentración del 2,3-DPG presentan los individuos normales, la tasa de Hb se correlaciona en sentido inverso con los niveles del fosfoglicerato. Nosotros no hemos podido demostrarlo. La correlación entre el pigmento respiratorio y el fosfoéster en nuestros 120 controles normales (grupo N) no tiene ninguna significación válida desde el punto de vista estadístico.

II. Anemias de diverso origen (Grupo A)

El valor medio de 2,3-DPG encontrado para nuestro grupo de 40 enfermos (9 hombres y 31 mujeres) afectados de un síndrome anémico de origen diverso (en su mayoría de causa ferropénica, aunque también aplásica, hemolítica crónica, secundaria, etc., pero con las exclusiones etiológicas, no obstante, que comentábamos en el capítulo de Material y Métodos) (grupo A) ha sido de 5.79 ± 1.02 mM (19.22 ± 4.27 μ moles/g Hb) (tabla 7); es decir, hemos hallado un valor significativamente superior ($p < 0.001$) al propio de nuestros controles normales (grupo N: 4.54 ± 0.57 mM), tal y como se muestra en la tabla 8 y en la Fig. 5, y que está en estrecha relación con las tasas de Hb y de Hcto de los enfermos. Casi la totalidad de los autores (41, 64, 75, 80, 95, 112, 135, 145, 158, 161, 166, 185, 201, 202, 217, 240, 242, 244) refieren resultados similares. En la tabla 41 se resumen esquemáticamente algunos ejemplos que creemos representativos en tal sentido. Se comprueba cómo, en general, los índices de Hb y de Hcto más bajos coinciden con los niveles de 2,3-DPG más elevados. Este hecho no hace sino confirmar, una vez más, el papel que, como mecanismo de adaptación a la deficiente oxigenación de los tejidos, desempeña el fosfoglicerato, mecanismo que es probablemente uno de los ajustes fisiopatológicos más económicos que, en respuesta a la hipoxia tisular, puede efectuar el organismo (75).

En el nuestro, así como en otros trabajos (24, 41, 44, 75, 80, 95, 112, 133, 158, 161, 190, 200, 201, 202, 240, 244), se ha podido demostrar que en los enfermos anémicos existe una correlación lineal, de orden inverso, con alto significado estadístico ($p < 0.001$), entre la concentración de 2,3-DPG (mM) y la tasa de Hb ($r = -0.58$) o el índice Hcto ($r = -0.61$) (tabla 9 y Fig. 6). Tanto el valor como el nivel de significación del coeficiente de correlación (r) que se refieren en otros estudios son habitualmente superponibles a los nuestros y las eventuales diferencias creemos que pueden ser atribuidas al distinto número de casos estudiados, al criterio de selección de los enfermos y, sobre todo, a la etiología de la anemia. Así, por ejemplo, Valeri (240) encuentra para " r " un valor de -0.55 ; Opalinski y Beutler (161) lo fijan en -0.65 ; Valeri y Fortier (244) establecen una cifra de -0.55 ; para Ninness et al. (158), sin embargo, el coeficiente de correlación tiene un valor superior ($r = -0.902$), que quizás sea la consecuencia lógica del escaso número de casos estudiados ($n = 16$) y de su especial criterio de selección (enfermos anémicos no urémicos y con un pH plasmático normal). La recta de regresión lineal entre el 2,3-DPG (mM) y la Hb a la que nosotros hemos llegado después de haber estudiado un grupo no escogido de 40 enfermos diagnosticados de "anemia simple" (grupo A) viene expresada por la ecuación: $2,3\text{-DPG (mM)} = -0.34 \text{ Hb (g \%)} + 9.2$ (tabla 9 y Fig. 6). Ninness et al. (158), en su trabajo, que reúne las peculiares características que hemos mencionado, encuentran una relación entre ambos parámetros que se define por la ecuación: $2,3\text{-DPG } (\mu\text{moles/g Hb}) = -0.807 \text{ Hb (g \%)} + 24.09$. Conviene, no obstante, tener en cuenta que estos autores expresan sus resultados, en lo que al 2,3-DPG se refiere, en el sistema de unidades " μ moles/g Hb", mientras que nosotros, en lo que hasta aquí hemos

Tabla 41: Niveles medios de 2,3-DPG eritrocitario en enfermos con anemia según los trabajos de diversos autores de la literatura. Signos y abreviaturas como en la tabla 40.

Autor	n	Hb	Hcto	2,3-DPG	
		(g %)	(%)	(mM)	(μ moles/g Hb)
1. Dickerman et al., 1973 (64)	12	7.33 \pm 1.17	—	—	24.54 \pm 3.87
2. Eaton et al., 1970 (75)	10 (M)	8.14 \pm 1.94	—	—	30.00 \pm 7.65
	10 (F)	8.31 \pm 1.74	—	—	29.49 \pm 8.82
3. Hjelm y Wadman, 1974 (112)	24 (F)	9.20 \pm 1.00	—	6.43 \pm 0.66	—
4. Lichtman y Miller, 1970 (135)	8	—	25 \pm 2.2	7.10 \pm 1.74	—
5. Sánchez Varela, 1975 (202)	20	8.8 (2.8 \leftrightarrow 12.5)	28.5 (8 \leftrightarrow 37)	—	19.48 (15.5 \leftrightarrow 36.75)
6. Slawsky y Desforges, 1972 (217)	14	—	—	—	13.11 \pm 2.81
7. Nosotros, 1980	40	10.07 \pm 1.72	32.9 \pm 5.1	5.79 \pm 1.02	19.22 \pm 4.27

comentado, lo hemos hecho en el "milimolar (mM)"; por ello, si transformásemos nuestros datos al primero de los dos sistemas de unidades comprobaríamos cómo nuestros resultados ($r = -0.726$; 2,3-DPG (μ moles/g Hb) = -1.79 Hb (g %) + 37.3) (tabla 9) son entonces mucho más parecidos a los de Ninness et al. (158).

La relación entre el 2,3-DPG y la Hb no queda limitada al caso particular de los enfermos anémicos, sino que tiene, por el contrario, un carácter mucho más general. Nosotros hemos demostrado este postulado, al haber conseguido establecer una correlación lineal entre ambos parámetros que resultó tener una elevada significación estadística ($r = -0.52$; $p < 0.001$), en el conjunto de los 413 casos estudiados en este trabajo, afectados de enfermedades diversas, y en los que el 2,3-DPG y la Hb habían sido determinados de forma simultánea. La ecuación de la recta de regresión viene dada por la expresión: 2,3-DPG (mM) = -0.21 Hb (g %) + 8.4 (Fig. 21). Estos hallazgos son una prueba más de que el organismo, en un intento de mantener la normoxia de los tejidos, ajusta las dos variables —la masa eritrocítica y el 2,3-DPG— de forma inversa; este sistema de adaptación se integra con el resto de los mecanismos fisiopatológicos, ya enumerados, que intervienen en el mantenimiento de la homeostasis del transporte del oxígeno (44).

Hemos discutido cómo los niveles de 2,3-DPG aumentan en proporción directa con el grado y la severidad del déficit de masa eritrocítica; sin embargo, no todas las anemias responden de la misma forma (64, 80, 95, 158, 161, 166, 185, 194, 201, 217, 236, 240, 242). Diversos autores (161, 201) sostienen que las anemias aplásicas muestran, para unas tasas de Hb equivalentes, unas concentraciones del fosfoéster inferiores a las que aparecen en otras anemias tales como las ferropénicas, las megaloblásticas, las hemolíticas crónicas, las secundarias, etc. Las anemias en las que

la respuesta medular es normal suelen cursar con un 2,3-DPG algo más elevado, ya que en ellas la médula ósea libera células rojas más jóvenes al torrente circulatorio; tales células, como ya hemos comentado con anterioridad, parecen poseer un metabolismo más activo y, por tal motivo, unos niveles superiores de los distintos intermediarios glicolíticos, entre ellos el 2,3-DPG (41, 161, 201). Esta pudiera ser una de las razones que explicaría por qué unas anemias se toleran mejor que otras. Un caso particular lo constituyen los síndromes anémicos que se caracterizan por cursar con una esplenomegalia importante, como, por ejemplo, la microesferocitosis hereditaria. Parece ser que el éstasis y el secuestro de los hematíes en el bazo originan una acidosis local y ello conduce a una activación enzimática de la DPGP y, por lo tanto, a un descenso en la concentración eritrocitaria del 2,3-DPG; tal descenso contrarrestaría la elevación debida al efecto directo de la anemia. La esplenectomía corregiría esta peculiar situación (64, 166). En nuestro trabajo no hemos intentado investigar ninguno de estos diversos aspectos.

Otro caso especial es el del síndrome anémico que suele aparecer asociado al panhipopituitarismo; el déficit de masa eritrocítica es aquí más bien el resultado de un ajuste a las menores demandas periféricas de oxígeno. El consumo del gas respiratorio por el organismo está en relación con las hormonas calorígenas —tiroideas y somatotropa principalmente—, por lo que no es de extrañar que tal consumo disminuya de forma marcada en el curso del hipotiroidismo o del panhipopituitarismo. En estos procesos la anemia asociada sería un fenómeno de adaptación a unas necesidades metabólicas de oxígeno disminuidas. Diversas pruebas de índole experimental avalan estos supuestos (242). Por tal motivo, no resulta sorprendente que en estas entidades clínicas no se origine una elevación en el 2,3-DPG similar a la que se produce en otras situaciones patológicas asociadas también a un síndrome anémico. La administración de tiroxina y de STH a primates hipofisectomizados induce un incremento en los niveles del fosfoglicerato (185). En este sentido, la determinación del metabolito glicolítico pudiera tener cierta importancia y ser de utilidad para diferenciar una anemia "adaptativa" a unos menores requerimientos tisulares de oxígeno de una anemia realmente "patológica" (185, 240). En el próximo capítulo revisaremos nuevamente algunos de estos conceptos.

III. Enfermedades tiroideas

1. *Eutiroidismos (Grupo E)*

Nos referimos en este apartado, como ya hemos explicado en el capítulo de Material y Métodos, a aquellas enfermedades tiroideas que se caracterizan por cursar con una normofunción glandular.

El nivel medio de 2,3 DPG que hemos encontrado en nuestros 38 enfermos eutiroideos (6 hombres y 32 mujeres), estudiados en total en 52 ocasiones distintas (grupo E), ha sido de 5.02 ± 0.48 mM (15.17 ± 1.80 μ moles/g Hb) (tabla 11). Este valor, que se sitúa en el límite alto de la normalidad, difiere, desde un punto de vista estadístico ($p < 0.001$), del que hemos hallado en nuestros controles sanos, tanto en su conjunto (grupo N: 4.54 ± 0.57 mM) como si sólo se considera el grupo de mujeres normales (grupo N2: 4.60 ± 0.57 mM) (tabla 14 y Fig. 7). La explicación para este aparente contrasentido parece sencilla. En primer lugar, en el grupo E de enfermos eutiroideos se han incluido algunos casos —lógicamente siempre con una demostrada normofunción glandular— en los que, por tratarse de pacientes ingresados en el Hospital por varios y diversos motivos, estaban presentes distintos procesos con capacidad para alterar “per se” la tasa del fosfoglicerato; hemos procurado, no obstante, eliminar tales enfermos “a priori”, según explicábamos en el capítulo de Material y Métodos, para evitar así, en lo posible, esta eventualidad. En segundo lugar, en algunos otros casos era evidente la existencia de un síndrome anémico —tal y como se puede apreciar en las tablas 10 y 11— a pesar de lo cual los valores medios de la Hb, del Hcto y de la CHCM para el grupo (13.94 ± 1.49 g %, 41.94 ± 4.44 % y 33.38 ± 1.84 %, respectivamente) fueron normales. Ello no es óbice para que el grupo E y el N difieran entre sí, también desde un punto de vista estadístico ($p < 0.02$), en lo que a la mayoría de estos parámetros hemáticos se refiere (tabla 14). Quizás esta última sea la causa que mejor explique los niveles de 2,3-DPG discretamente elevados que hemos objetivado en los enfermos eutiroideos en comparación con los que hemos hallado en los sujetos normales (tabla 14 y Fig. 7). Lógicamente, el grado de anemia del grupo E es mucho menor ($p < 0.001$) que el propio del grupo A (“anemia simple”) y, por lo tanto, también en este último grupo la tasa media del glicerofosfato (5.79 ± 1.02 mM) es muy superior ($p < 0.001$) a la del primero (tabla 19).

Muy pocos trabajos en la literatura se han referido de manera específica al 2,3-DPG eritrocitario en las situaciones de normofunción glandular tiroidea. Solamente Zaroulis et al. (260), en una reciente publicación, se han ocupado del tema; en 7 enfermas eutiroideas, estudiadas en 9 ocasiones distintas, con unos valores medios de Hb y de Hcto normales, han encontrado unos niveles medios del fosfoderivado (14.4 ± 2.4 μ moles/g Hb) que no diferían estadísticamente de los de sus controles sanos.

A la vista de éstos y de nuestros resultados podemos concluir que en los enfermos en situación de normalidad funcional tiroidea el contenido en 2,3 DPG de los hematíes es normal, salvo que se encuentren presentes otras alteraciones, como puede ser la anemia, que tengan capacidad por sí mismas para modificar la tasa del organofosfato.

En los 25 enfermos hipertiroides (2 hombres y 23 mujeres), que fueron estudiados en total en 35 ocasiones diferentes (grupo H), hemos encontrado un contenido eritrocitario medio de 2,3-DPG de 5.66 ± 0.69 mM (16.95 ± 2.18 μ moles/g Hb) (tabla 13). Este valor es significativamente superior ($p < 0.001$) al propio de nuestros controles normales, tanto del grupo N (4.54 ± 0.57 mM) como del N2 (4.60 ± 0.57 mM), y al hallado en los enfermos eutiroides (grupo E: 5.02 ± 0.48 mM) (tabla 14 y Fig. 7).

En la tabla 42 resumimos de forma esquemática los resultados de los escasos trabajos que se han ocupado de este mismo tema. La generalidad de los autores (147, 149, 152, 245), con la única excepción de Zaroulis et al. (260), coinciden con nosotros en sus hallazgos: el 2,3-DPG se encuentra elevado en el hipertiroidismo. Más adelante matizaremos esta afirmación. Diversos supuestos de orden experimental, tanto en hombres como en animales, apoyan también este aserto. La supresión brusca de un tratamiento continuado con tiroxina en 10 personas sanas, a una dosis diaria entre 150 y 200 μ g, durante cuatro o seis semanas (el tiempo necesario para conseguir una curva de TSH plana en respuesta al test de la TRH), produce, en las tres semanas siguientes, una caída paulatina y progresiva en la tasa del fosfoderivado, sin que se evidencien cambios paralelos en la Hb o en el Hcto, pero sí en la T_4 sérica (205, 207).

La administración por vía oral de 1 mg de tiroxina, en una dosis única semanal, a un grupo de once sujetos normales origina un incremento, a las 24 horas de la toma, en las concentraciones del 2,3-DPG y de la T_4 sérica, incremento que desaparece lentamente a lo largo de la semana siguiente; durante toda la experiencia no se logran objetivar modificaciones en los niveles basales de la Hb o del Hcto (205, 207). Tras el nacimiento, en las dos primeras semanas de vida, es posible poner

Tabla 42: Niveles medios de 2,3-DPG eritrocitario en enfermos con hipertiroidismo, según los trabajos de diversos autores de la literatura. Signos y abreviaturas como en la tabla 40.

Autor	n	Hb	Hcto	T_3	T_4	2,3-DPG	
		(g %/o)	(%o)	(ng %/o)	(μ g %/o)	(mM)	(μ moles/g Hb)
1. Miller et al., 1970 (147)	8	—	—	—	—	6.120	—
2. Miller et al., 1970 (149)	1	—	—	—	—	7.734	—
3. Monti, 1974 (152)	28	12.8 ± 1.11	—	159 ± 34	—	5.51 ± 0.6	—
4. Vallet et al., 1972 (245)	19	—	38.4	—	—	5.5	—
5. Zaroulis et al., 1978 (260)	9	13.4 ± 1.8	41 ± 4.5	271 ± 103	14 ± 3	—	14.7 ± 2.1
6. Nosotros, 1980	35	13.7 ± 1.4	41 ± 4.7	328 ± 129	16 ± 5	5.66 ± 0.69	16.9 ± 2.1

de manifiesto un discreto ascenso en la tasa del fosfoglicerato, que alcanza el máximo hacia el cuarto día y que sigue un curso paralelo al aumento que experimentan la TSH y la T_4 séricas, tal y como ha podido ser demostrado en doce recién nacidos sanos; la correlación entre esa última hormona —la tiroxina— y el 2,3-DPG se establece a un nivel significativo ($r = 0.745$; $n = 52$; $p < 0.001$; $2,3\text{-DPG (mM)} = 0.18 T_4 (\mu\text{g } \%) + 2.902$) sólo si se toman en consideración aquellos casos en los que el valor del pH plasmático es superior a 7.25 y no existe, sin embargo, si se incluye a todos aquellos otros con un pH inferior (182, 248); colateralmente, esta experiencia no hace sino confirmar una vez más el efecto inhibitor que sobre la síntesis del fosfoéster ejerce la acidosis. La tiroxina, por lo tanto, parece actuar en el período postnatal como un estimulador de la producción del 2,3-DPG; esta estimulación no parece estar mediada por el pH ni tampoco por la hipoxemia (182, 248).

La inducción experimental de un hipertiroidismo en un hombre sano de 35 años de edad, merced a la administración de una dosis de 200 $\mu\text{g/día}$ de liotironina durante dos semanas consecutivas, no solamente conduce a la aparición, a partir del cuarto día de la prueba, de los síntomas y signos característicos de la hiperfunción tiroidea sino que, además, origina un aumento en la concentración del 2,3-DPG (desde 4.375 a 5.76 mM) y en el valor de la p50 (de 26 a 30.5 mm Hg); estas alteraciones desaparecen cuando se suspende la medicación (149).

Resultados similares a los que hasta aquí hemos expuesto se han obtenido, también desde un punto de vista experimental, en diversas especies de animales (126, 185, 203).

El hipotético mecanismo a través del cual las hormonas tiroideas podrían influir sobre el metabolismo eritrocitario y, más concretamente, sobre el 2,3-DPG es un tema sujeto a discusión (58, 149, 182, 205, 207, 219, 220, 221, 234, 242, 248); ya lo hemos analizado en detalle en el apartado E-V de la Introducción a este trabajo. Quizás convenga ahora comentar algún otro estudio, efectuado en este mismo sentido y en el que, hasta cierto punto, se discrepa del nuestro y de nuestros resultados. El más interesante al respecto es el de Monti (152), publicado en el año 1974. Este autor encuentra (tabla 42), como nosotros, que en 28 enfermos hipertiroideos (4 hombres y 24 mujeres), de edades comprendidas entre 13 y 77 años ($\bar{X} = 48$ años), los niveles de 2,3-DPG (5.51 ± 0.6 mM) son significativamente superiores ($p < 0.001$) a los que se objetivan en 24 controles normales (4.88 ± 0.4 mM). Dichos enfermos, como grupo, no presentaban anemia ($\text{Hb} = 12.8 \pm 1.1$ g %), aunque ésta sí que existía en siete de ellos al examinarlos individualmente. Por este motivo, al establecer una nueva comparación estadística entre el grupo de hipertiroideos —después de haber eliminado de él a esos siete casos y también a aquellos otros cuatro de sexo masculino ($n = 17$; $2,3\text{-DPG} = 5.42 \pm 0.6$ mM)— y el grupo de mujeres sanas de su grupo control ($n = 11$; $2,3\text{-DPG} = 5.00 \pm 0.4$ mM), la diferencia, aunque manifiesta, deja de tener un valor significativo. Monti (152) concluye que la elevación del contenido eritrocitario en 2,3-DPG que es posible demostrar en el curso de algunos hipertiroidismos aparece sobre todo como consecuencia del síndrome anémico que, en ocasiones, se asocia a la enfermedad de base. Nuestros re-

sultados, aunque coincidentes en el primer aspecto —el 2,3-DPG está elevado en la hiperfunción glandular tiroidea—, discrepan en cuanto al segundo —la anemia es la causa de tal incremento—. En efecto, si bien en nuestro grupo H de enfermos hipertiroideos se incluyen algunos casos en los que los índices de Hb o de Hcto se encuentran algo descendidos, este descenso es, en general, muy poco marcado (límites inferiores de 11.4 g % y 34 %, respectivamente) y no repercute sobre los niveles medios para el grupo de ambos parámetros hemáticos (13.75 ± 1.43 g % y 41.22 ± 4.77 %, también respectivamente) (tabla 13). No ha de extrañar, por tal motivo, que no se haya podido demostrar diferencia significativa alguna, desde un punto de vista estadístico, para la Hb o el Hcto, entre el grupo N2 (mujeres normales) y el H, o entre este último y el E (enfermos eutiroideos); esta diferencia, sin embargo, sí que se puede poner de manifiesto ($p < 0.001$) cuando lo que se compara es la tasa media del fosfoglicerato del grupo H (5.66 ± 0.69 mM) con la del grupo E (5.02 ± 0.48 mM) o con la del grupo N2 (4.60 ± 0.57 mM) (Fig. 7); obviamente, por definición, el primero y el segundo de estos tres últimos grupos difieren apreciablemente ($p < 0.001$) en cuanto a sus concentraciones séricas medias de T_3 (328 ± 129 ng % y 143 ± 27 ng %, respectivamente) y de T_4 (16.32 ± 5.26 μ g % y 9.26 ± 1.84 μ g %, también respectivamente) (tabla 14).

En conclusión, para nosotros el incremento en la tasa del 2,3-DPG que es posible evidenciar en los enfermos hipertiroideos no se debe a la anemia que eventualmente pueden presentar. Esta afirmación tiene una segunda línea de apoyo en algunos otros hallazgos que comentaremos a continuación, cuando hablemos de la respuesta del fosfoglicerato a la terapéutica antitiroidea. En último extremo también cabría sustentarla en varios trabajos de la literatura (126, 205, 207), que abogan en el mismo sentido.

Finalmente, no queremos dejar de referirnos a la publicación de Zaroulis et al. (260), la única en la que no se demuestran modificaciones significativas en el nivel del fosfoderivado eritrocitario en los enfermos con hipertiroidismo (tabla 42). Un análisis pormenorizado del trabajo pudiera mitigar, al menos en parte, esta discrepancia. En primer lugar, el número de casos recogidos es muy exíguo (7 enfermos estudiados en 9 ocasiones distintas), lo que, indudablemente, resta valor a las conclusiones; en segundo lugar, el grado de hiperfunción tiroidea de sus pacientes ($T_3 = 271 \pm 103$ ng % y $T_4 = 14 \pm 3$ μ g %) es bastante inferior al de los nuestros ($T_3 = 328 \pm 129$ ng % y $T_4 = 16.3 \pm 5.2$ μ g %); en tercer lugar, el nivel medio del 2,3-DPG para el grupo (14.7 ± 0.7 μ moles/g Hb), aunque dentro de la zona que establecen los autores (260) como de valores normales (12.5 a 15.0 μ moles/g Hb), se sitúa en el límite superior de dicha normalidad, lo que equivale a decir que varios de los enfermos se encuentran realmente por encima de tal límite; en cuarto y último lugar, en el trabajo no se menciona la situación clínica de los enfermos estudiados en lo que se refiere a factores tales como el pH, el CO_3H^- , la pO_2 , etc., que son los responsables, en ocasiones, de las alteraciones que experimenta el 2,3-DPG; es cierto, no obstante, que sí se especifican las tasas medias de la Hb, del Hcto y del P, que son, para el grupo en su con-

junto, normales (tabla 42). Los autores en cuestión (260) concluyen con la sugerencia, que compartimos, de que bien pudiera ser que en sus casos, con un grado moderado de hipertiroidismo, un aumento en el gasto cardíaco fuera suficiente para compensar los mayores requerimientos periféricos de oxígeno propios de la situación hipermetabólica; no sería aquí entonces preciso que se pusieran en marcha otros mecanismos de adaptación a la hipoxia —como, por ejemplo, el del 2,3-DPG eritrocitario—, que sólo aparecerían en determinados pacientes, con una mayor gravedad, o bien en aquellos otros en los que ciertas complicaciones intercurrentes —la anemia, la hipoxemia—, sobreañadidas a la enfermedad de base, consiguieran alterar en ellos la homeostasis del transporte de oxígeno.

Solamente en 15 de nuestros 25 enfermos hipertiroideos hemos tenido la oportunidad de seguir las variaciones experimentadas en la concentración eritrocitaria del 2,3-DPG a lo largo del tratamiento de la enfermedad, cuando, tras la terapéutica antitiroidea —médica o quirúrgica— oportuna, se conseguía llegar a una situación de normalidad funcional glandular. Desde un valor medio inicial del glicerofosfato para los 15 casos de 5.85 ± 0.75 mM (17.63 ± 2.58 μ moles/g Hb) se alcanza, después del tratamiento pertinente, un nivel medio de 5.10 ± 0.65 mM (15.74 ± 1.78 μ moles/g Hb), que difiere notablemente ($p < 0.01$) del primer valor, desde un punto de vista estadístico. Obviamente, coincidiendo con este descenso, se comprueba también una disminución significativa ($p < 0.001$) en las tasas de las hormonas tiroideas circulantes; sin embargo, no se consigue demostrar ninguna modificación en los valores medios para el grupo de la Hb, el Hcto, la CHCM, el P, la G, el BUN o el K^+ (tabla 16 y Fig. 8). Es decir, la caída en la hormonemia se acompaña de una normalización paralela en la concentración del fosfoglicerato, normalización que no parece depender de factores tales como la Hb, el Hcto o el P que, por el contrario, no experimentan variación alguna. Estos hallazgos sugieren, nuevamente, que son las hormonas tiroideas y no la anemia el origen del incremento en el contenido eritrocitario en 2,3-DPG que es posible objetivar en el hipertiroidismo.

A resultados similares llegan Miller et al. (147) después de seguir, durante unos meses, el curso evolutivo de tres enfermos hipertiroideos tratados médicamente. Monti (152), sin embargo, no confirma estos hallazgos en su estudio, en el que, por otra parte, no se hace ninguna mención a las posibles alteraciones que, inducidas por la terapéutica, pudieran haber aparecido en la Hb o en el Hcto.

3. Hipotiroidismos (Grupo T)

El nivel medio de 2,3-DPG que hemos encontrado en los 13 enfermos diagnosticados de hipotiroidismo (grupo T), todos ellos del sexo femenino, ha sido de 5.23 ± 0.66 mM (15.77 ± 2.49 μ moles/g Hb) (tabla 18). Este valor es significativamente superior ($p < 0.001$) al propio

del de nuestros controles normales del mismo sexo (grupo N2: 4.60 ± 0.57 mM), pero no difiere, desde un punto de vista estadístico, del valor medio hallado en los enfermos eutiroides (grupo E: 5.02 ± 0.48 mM) (tabla 19 y Fig. 7). La explicación de estos hechos creemos que se encuentra, una vez más, en los distintos índices medios de Hb y de Hcto de cada uno de los grupos en cuestión. El grupo N2 presenta, lógicamente, unos índices normales (Hb = 13.51 ± 1.05 g % y Hcto = 41.76 ± 2.41 %) y que son, por lo tanto, notablemente superiores ($p < 0.02$ y $p < 0.001$, respectivamente) a los propios del grupo T (Hb = 12.50 ± 2.03 g % y Hcto = 37.30 ± 4.64 %) (tabla 19). No puede sorprender, a la vista de esta divergencia, que la concentración media del 2,3-DPG sea mayor ($p < 0.001$) en las enfermas hipotiroideas que en las mujeres sanas del grupo control (tabla 19 y Fig. 7). El grupo E incluye algunos casos, ya lo hemos analizado en los apartados anteriores de este mismo capítulo, en los que se encuentra presente una anemia marcada. Este es el motivo —a esa conclusión llegábamos entonces— que explica por qué nuestro grupo de enfermos eutiroides tiene unos niveles medios del fosfoglicerato discretamente elevados en comparación con los de los sujetos normales. En atención a esta circunstancia resulta hasta cierto punto lógico que el grupo E y el T no difieran entre sí en lo que al 2,3-DPG se refiere; a pesar de ello, el primero de los dos grupos muestra unos valores del fosfoderivado algo inferiores a los que se demuestran en el segundo (al efectuar el cálculo estadístico una diferencia del orden de la centésima impedía que la significación tuviera validez matemática), lo que está en recíproca correspondencia con las menores tasas medias de Hb y de Hcto que aparecen en el segundo con respecto al primero de dichos grupos (tablas 18 y 19).

Nuestra suposición de que la anemia es la causa de la elevación en el 2,3-DPG que aparece en nuestros 13 pacientes hipotiroideos queda también claramente demostrada cuando escindimos el grupo T en dos categorías distintas y excluyentes entre sí: el grupo T₁ y el T₂, de enfermos con y sin anemia respectivamente (tablas 17 y 19). Al ser comparado el grupo T₁ (hipotiroidismos con anemia) con el A ("anemia simple") comprobamos cómo no solamente no existen diferencias significativas en cuanto a las tasas de Hb y de Hcto entre ambos grupos, sino que tampoco se evidencian ya en lo que se refiere a sus niveles respectivos de 2,3-DPG; es decir, para similar grado de anemia el contenido eritrocitario en el fosfoéster es también equiparable. Por otra parte, si establecemos otra comparación entre el grupo T₂ (hipotiroidismos sin anemia) y el E (eutiroidismos) observamos cómo, a pesar de diferir ambos grupos de forma notable ($p < 0.001$) en cuanto a sus niveles séricos de T₃, de T₄ y de TSH, no se aprecia, por el contrario, diferencia significativa alguna entre ellos en lo que a la Hb, el Hcto y el 2,3-DPG respecta; es decir, cuando los enfermos hipotiroideos no presentan anemia muestran unos valores del glicerofosfato que son similares a los que se objetivan en los sujetos con normofunción tiroidea (tabla 19).

Nuestros hallazgos sobre este tema sólo pueden ser comparados con dos trabajos (185, 260), los únicos que hemos encontrado, después de revisar la literatura, que se han ocupado directa o indirectamente, de este mismo problema. Zaroulis et al. (260), en una reciente publicación, refie-

ren haber hallado en 9 enfermos hipotiroideos, estudiados en 14 ocasiones distintas, unos niveles de 2,3-DPG ($14.1 \pm 2.2 \mu\text{moles/g Hb}$) que no se diferenciaban significativamente de los de sus controles normales ni de los de un grupo de 7 pacientes eutiroideos estudiados en 9 ocasiones distintas ($14.4 \pm 2.4 \mu\text{moles/g Hb}$). Los dos grupos de enfermos tampoco diferían entre sí en cuanto a la Hb o al Hcto, pero sí se comprobaban en ellos, en cambio, claras diferencias en las tasas séricas de T_3 , de T_4 y de TSH ($p < 0.05$). Nuestros resultados, a este respecto, son prácticamente superponibles con los de Zaroulis et al. (260).

Rodríguez y Shahidi (185) estudian cinco casos de panhipopituitarismo, todos ellos con una masa eritrocítica y un volumen plasmático disminuidos —y, por tal motivo, con un índice Hcto normal—; comprueban cómo los niveles del 2,3-DPG no se encontraban elevados, sino más bien, por el contrario, algo descendidos ($4.17 \pm 0.47 \text{ mM}$). Al tratar uno de estos casos con L-tiroxina, a una dosis diaria de 0.15 mg, se evidenciaba un ascenso, a lo largo de las cinco semanas siguientes, en la tasa del fosfoglicerato. A la vista de estos hechos los mencionados autores (185) concluyen con la sugerencia, en lo que al papel homeostático del 2,3-DPG se refiere, de que en el hipotiroidismo sería posible distinguir dos órdenes de situaciones diferentes: en primer lugar, aquellas en las que la anemia es el resultado de una adaptación a las menores necesidades tisulares de oxígeno, como consecuencia específica de la enfermedad, y en las que no sería necesaria la mediación compensadora del fosfoéster y, en segundo lugar, aquellas otras situaciones en las que la anemia es auténticamente "patológica", por una causa sobreañadida al trastorno de base, y en las que sí que sería imprescindible la intervención del glicerofosfato.

Nuestros hallazgos, por el número relativamente pequeño de casos estudiados, no nos permiten pronunciarnos sobre este aspecto del tema ni tampoco sobre otros similares, como pudiera ser la evolución del 2,3-DPG a lo largo del tratamiento de la enfermedad.

4. *Correlación del 2,3-DPG intraeritrocitario con otros parámetros bioquímicos en las enfermedades tiroideas*

En el conjunto de los 76 enfermos tiroideos de ambos sexos (con hiper-normo- o hipofunción glandular), estudiados en 100 ocasiones distintas, se demuestra una significativa correlación ($p < < 0.001$) entre el 2,3-DPG (mM) y los niveles de T_3 ($r = 0.4404$) o de T_4 ($r = 0.3317$) séricos, con unas rectas de regresión que se definen, respectivamente, por las ecuaciones: $2,3\text{-DPG (mM)} = 0.0022 T_3 \text{ (ng \%)} + 4.8$ y $2,3\text{-DPG (mM)} = 0.038 T_4 \text{ (\mu g \%)} + 4.8$ (tabla 20 y Figs. 9 y 10).

En 52 determinaciones, seleccionadas sobre la base de haber sido excluidos aquellos casos en los que el valor del pH plasmático era inferior a 7.25, el grupo de Riegel (182, 248) refiere un coeficiente de correlación entre el 2,3-DPG y la T_4 igual a 0.745 y una recta de regresión que se expresa por la relación: $2,3\text{-DPG (mM)} = 0.18 T_4 \text{ (\mu g \%)} + 2.902$.

También Schweigart et al. (207) encuentran una estrecha correlación ($p < 0.05$) entre el fosfoglicerato y la T_4 sérica, con un coeficiente igual a 0.405, pero con la circunstancia a su favor de que, al establecer su significación, únicamente fueron considerados aquellos enfermos en los que era evidente una situación de hiperfunción tiroidea.

En conjunto puede afirmarse que los resultados de cualquiera de estos dos últimos grupos de trabajo son, en general, muy similares a los nuestros.

Solamente Zaroulis et al. (260) no han conseguido demostrar relación válida alguna, después de haber estudiado a 23 pacientes, entre el 2,3-DPG y las hormonas tiroideas.

La significativa correlación que se demuestra en nuestros casos entre el 2,3-DPG (mM) y el Hcto o entre el 2,3-DPG ($\mu\text{moles/g Hb}$) y la Hb o la CHCM (tablas 20 y 21) desaparece al eliminar del estudio estadístico el grupo de enfermos eutiroideos ($n = 52$); esto no hace sino confirmar una vez más el hecho de que, en las situaciones caracterizadas por una normofunción glandular, los niveles del fosfoglicerato se modulan preferentemente por el grado de anemia. En la Fig. 21 se puede apreciar este mismo fenómeno, al comprobarse cómo los pacientes hipertiroideos se sitúan en la gráfica por encima de la recta de regresión entre el 2,3-DPG (mM) y la Hb, mientras que los enfermos eutiroideos se entremezclan con los sujetos normales, con una localización preferente alrededor de dicha recta. Nuestra interpretación de esta peculiar circunstancia es la de que en el hipertiroidismo existe un factor específico que altera la normal relación entre la Hb y el 2,3-DPG: la elevación en los niveles de las hormonas tiroideas circulantes.

IV. Cirrosis hepáticas (Grupo C)

En los 60 enfermos diagnosticados de cirrosis hepática (28 hombres y 32 mujeres) (grupo C) hemos encontrado un nivel medio eritrocitario de 2,3-DPG de 7.40 ± 1.23 mM ($22.69 \pm \pm 4.47$ $\mu\text{moles/g Hb}$) (tabla 23). Este valor es muy superior ($p < 0.001$) al que hemos hallado en nuestros controles normales (grupo N: 4.54 ± 0.57 mM), así como también ($p < 0.001$) al que hemos objetivado en el grupo de enfermos diagnosticados de "anemia simple" (grupo A: $5.79 \pm \pm 1.02$ mM) (tabla 25). Si bien el primero de estos dos hallazgos puede ser considerado como lógico y normal, el segundo, en cambio, no deja de ser sorprendente. En efecto, el hecho de que los enfermos cirróticos tengan un contenido globular en 2,3-DPG superior al de los sujetos sanos resulta comprensible, ya que los primeros muestran unas tasas de Hb (11.80 ± 2.50 g %) y de Hcto (35.85 ± 6.82 %) mucho menores ($p < 0.001$) que las de los segundos (14.29 ± 1.61 g % y 43.74 ± 4.20 %, respectivamente) (tabla 25); es decir, como grupo —en sentido estadístico— los enfermos cirróticos pueden ser considerados como anémicos —el 50 % de los casos lo son, además, si se analizan individualmente (tablas 22 y 24)—, por lo que no es de extrañar que se produzca en ellos una elevación compensadora en la concentración eritrocitaria del 2,3-DPG. Llama po-

derosamente la atención, no obstante, la gran magnitud de esa elevación si tenemos en cuenta el moderado grado de anemia que presentan los pacientes. Este hecho se pone aún más claramente de manifiesto cuando comparamos el grupo C, de enfermos cirróticos, con el A, de enfermos con "anemia simple". Los primeros, a pesar de tener una anemia mucho menos severa ($p < 0.001$) que la de los segundos, muestran unos niveles de 2,3-DPG (7.40 ± 1.23 mM) muy superiores ($p < 0.001$) a los de estos últimos (5.79 ± 1.02 mM) (tabla 25). Dos o tres hipótesis distintas, al menos, podrían ser tomadas en consideración si intentásemos explicar estos hallazgos. En la literatura existen pocos trabajos (15, 19, 62, 115, 117, 175, 201, 233) que se hayan ocupado del estudio del 2,3-DPG eritrocitario en la cirrosis hepática y muchos menos aún (15, 19, 117, 233) lo han hecho desde un punto de vista analítico estricto. Prácticamente todos los autores (15, 19, 62, 115, 117, 175, 201, 233) coinciden al afirmar que, salvo en circunstancias excepcionales, las concentraciones del fosfoglicerato se encuentran elevadas en los enfermos cirróticos. En la tabla 43 exponemos de forma esquemática los resultados de algunos de los trabajos más representativos en este sentido. En pocos estudios (15, 19, 233), sin embargo, se ha tratado de investigar cuáles son las causas que conducen a la mencionada elevación en la tasa del fosfoéster. Podría pensarse que la anemia, frecuente en el curso de las hepatopatías crónicas, habría de tener un papel preponderante a este respecto. Nosotros hemos encontrado, tal y como indicábamos más arriba —y como nosotros también lo han observado otros autores (15, 201, 233)—, que el incremento en la concentración del 2,3-DPG excede a lo que cabría esperar por el grado de anemia que presentan los enfermos. Este hecho puede, además, cuantificarse de modo exacto si nos valemos de la ecuación de la recta de regresión entre la Hb y el 2,3-DPG ($2,3\text{-DPG (mM)} = -0.34 \text{ Hb (g \%)} + 9.2$) que habíamos calculado como característica del grupo de pacientes diagnosticados de "anemia simple" (grupo A) (tabla 9 y Fig. 6). Si en la mencionada ecuación sustituimos la cifra de Hb (g %) de cada uno de los enfermos cirróticos obtendremos el valor teórico del fosfoglicerato (mM) que les correspondería a cada uno de ellos por su grado de anemia. La media aritmética de todos los valores teóricos de 2,3-DPG así calculados, para cada uno de los 60 casos de este grupo C, ha sido de 5.18 ± 0.84 mM. Este valor medio teórico (VT) es significativamente menor ($p < 0.001$), desde un punto de vista estadístico, que el valor medio real encontrado en dicho grupo (grupo C: 7.40 ± 1.23 mM), pero aún es claramente superior ($p < 0.001$) al valor medio normal del organofosfato de nuestro grupo control (grupo N: 4.54 ± 0.57 mM) (Fig. 12). Queda así demostrado de forma concluyente que el contenido intracorpúscular del 2,3-DPG de los enfermos cirróticos es mucho mayor que aquél que teóricamente les correspondería por su déficit de masa eritrocítica. Dicho de otro modo, aunque la anemia, indudablemente, debe de ser uno de los factores que interviene en la regulación del incremento que experimenta la tasa del fosfoéster en el curso de la cirrosis hepática, no parece que ese factor sea el único y ni siquiera el más importante de todos ellos. En la Fig. 21 se puede apreciar este mismo fenómeno, al comprobarse cómo los enfermos cirróticos se sitúan en la gráfica muy por encima de la recta de regresión entre el 2,3-DPG (mM) y

Tabla 43: Niveles medios de 2,3-DPG eritrocitario en enfermos con cirrosis hepática, según los trabajos de diversos autores de la literatura.* Signos y abreviaturas como en la tabla 40.

Autor	n	Hb (g %/o)	Hcto (%/o)	pH —	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	2,3-DPG (mM)
1. Johnson et al., 1973 (117)	14	—	32 ± 1	7.49 ± 0.01	75 ± 4	30 ± 2	5.85 ± 0.38
2. Sánchez Varela, 1975 (201)	18	10.3 ± 17.5	41 ± 5	—	—	—	6.06 ± 0.77
3. Thomas et al., 1974 (233)	14	—	32 ± 5	7.40 ± 0.02	79 ± 8	35 ± 6	6.20 ± 0.60
4. Nosotros, 1980	60	11.8 ± 2.5	35 ± 6	7.42 ± 0.04	79 ± 14	36 ± 5	7.40 ± 1.23

* Gilsanz et al. también han encontrado unos niveles elevados de 2,3-DPG en la cirrosis hepática, pero sin haber llegado a establecer una correlación lineal con los valores del pH plasmático determinados simultáneamente. (Comunicación personal.)

Tabla 44: Valores medios del pH plasmático y de los gases respiratorios en sangre arterial en enfermos con cirrosis hepática, según los trabajos de diversos autores de la literatura. Signos y abreviaturas como en la tabla 40.

Autor	n	Hb (g %/o)	Hcto (%/o)	pH —	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)
1. Abelmann et al., 1961 (2)	17	11.3 ± 1.8	—	—	73 ± 8	—
2. Astrup y Rorth, 1973 (15)	48	—	—	7.40 ± 0.03	95 ± 3	37 ± 5
3. Georg et al., 1960 (98)	18	—	—	—	84 ± 14	—
4. Heinemann et al., 1960 (108)	10	—	33 ± 7	7.42 ± 0.02	77 ± 7	35 ± 4
5. Karetzky y Mithoefer, 1967 (122)	7	—	—	7.49	68	33
6. Kontos et al., 1964 (127)	16	—	33 ± 5	7.43 ± 0.04	86 ± 15	36 ± 5
7. Martini et al., 1972 (141)	12	—	—	—	83 ± 9	35 ± 4
8. Mellempgaard et al., 1963 (144)	18	11.6 ± 1.5	—	7.39	86 ± 8	36.5
9. Rodman et al., 1959 (183)	3	—	—	7.43	59	28
10. Rodman et al., 1960 (184)	19	—	—	—	—	36 ± 4
11. Stanley y Woodgate, 1971 (226)	24	—	—	—	≈80	—
12. Tyor y Sieker, 1959 (238)	39	—	—	7.43 ± 0.04	—	30 ± 6
13. Williams, 1960 (253)	6	—	—	—	85 ± 5	33 ± 3
14. Wolfe et al., 1977 (256)	3	15.9 ± 1.7	46 ± 5	7.43 ± 0.04	58 ± 9	28 ± 5
15. Zimmon, 1967 (261)	16	—	—	7.42 ± 0.03	70 ± 20	—
16. Nosotros, 1980	60	11.8 ± 2.5	35 ± 6	7.42 ± 0.04	79 ± 14	36 ± 5

la Hb; es decir, algún factor presente en estos enfermos altera la normal relación entre ambos parámetros — el pigmento respiratorio y el fosfoderivado— de tal forma, que consigue que su interdependencia se establezca a un nivel muy superior al habitual. A conclusiones similares, aunque no siempre a través de los mismos razonamientos, han llegado otros autores (15, 19, 62, 117, 201, 233). A pesar de que en algunos trabajos (15, 19, 117) se ha logrado establecer una correlación significativa entre la Hb y el 2,3-DPG (mM) en los enfermos cirróticos, en nuestro estudio, así como en algunos otros (201, 233), no se ha conseguido demostrar, sin embargo, que tal correlación tuviera una significación válida desde el punto de vista estadístico (tabla 26).

Además de la anemia otros dos factores —la hipoxemia y las alteraciones en el equilibrio ácido-base— pudieran ser responsables de las modificaciones que aparecen en el contenido eritrocítico en 2,3-DPG en el curso de las hepatopatías crónicas.

La hipoxemia es relativamente frecuente en la cirrosis hepática (2, 15, 19, 62, 86, 98, 108, 117, 122, 127, 140, 141, 144, 175, 184, 218, 223, 226, 233, 253, 256, 261). Nosotros la hemos detectado en un 50 % de los casos (tabla 24). Su intensidad suele ser moderada, con una pO_2 que se sitúa habitualmente entre 60 y 80 mm Hg y sólo rara vez por debajo de 50 mm Hg; a pesar de ello, la SaO_2 suele ser normal (2, 34, 50, 60, 98, 108, 121, 122, 141, 144, 156, 175, 184, 223, 226, 238, 256, 261). En la tabla 44 resumimos los resultados de algunos autores que se han ocupado de este mismo tema y que creemos representativos en tal sentido. En la Introducción de este trabajo, apartado E-VI, hemos analizado en detalle cuáles son los mecanismos fisiopatológicos básicos que pueden dar origen a una hipoxemia en una enfermedad hepática crónica.

En nuestro grupo de 60 enfermos cirróticos los valores medios de la pO_2 y de la SaO_2 han sido de 79.89 ± 14.95 mm Hg y de 95.25 ± 2.27 %, respectivamente (tabla 23). La intensidad de la hipoxemia no parece ser, por lo tanto, de una magnitud suficiente como para poder explicar por sí misma el gran aumento en la tasa del fosfoglicerato que se observa en nuestros casos. De la misma opinión son también otros autores (15, 62, 117, 175, 233). No obstante, en nuestros enfermos la correlación entre la pO_2 y el 2,3-DPG (mM) muestra una cierta validez estadística ($p < 0.05$), de lo que se deduce que, aunque quizás escasa, existe una cierta influencia de la hipoxemia sobre el metabolismo del organofosfato en la cirrosis hepática (tabla 26 y Fig. 14). La integración de los dos factores hasta ahora analizados —la anemia y la pO_2 — en un nuevo parámetro —el contenido arterial de oxígeno o CaO_2 — nos ofrece una nueva prueba de la relativa importancia que tienen ambos factores en lo que se refiere a las modificaciones que experimenta la tasa del fosfoéster en esta situación clínica; efectivamente, la correlación entre el 2,3-DPG (mM) y el CaO_2 tiene también una notable significación matemática ($p < 0.05$) (tabla 26) Thomas et al. (232) han comentado un hallazgo similar.

La alcalosis respiratoria es el trastorno del equilibrio ácido-base que con más frecuencia se asocia a las hepatopatías crónicas (15, 50, 51, 108, 117, 121, 122, 124, 140, 155, 181, 183, 184, 218, 223, 233, 238, 240, 246). Nosotros la hemos encontrado en un 41.6 % de los casos (tabla

24). La hipocarbica debida a una hiperventilación crónica suele ser también habitual (15, 107, 108, 117, 122, 127, 155, 181, 183, 184, 218, 223, 238, 246, 256). En nuestros 60 enfermos cirróticos hemos hallado un valor medio para el pH plasmático de 7.42 ± 0.04 y para la pCO_2 de 36.00 ± 5.30 mm Hg (tabla 23). En la tabla 44 resumimos esquemáticamente los resultados de algunos trabajos referentes a este mismo tema.

Otras anomalías del balance ácido-base, como la acidosis láctica, son menos frecuentes en el curso de la cirrosis hepática; en todo caso suelen aparecer en los estadios finales de la enfermedad —coma hepático, encefalopatía portal— y tienen, por lo tanto, un pronóstico mucho menos favorable (97, 109, 128, 155, 175, 181, 246). Nosotros, en 28 casos, todos ellos en una situación estable desde el punto de vista clínico, hemos objetivado un nivel medio de lactato en sangre de 8.14 ± 2.21 mg %, que puede considerarse como normal; en ningún enfermo se ha encontrado una hiperlactacidemia franca (tabla 23). En este aspecto coincidimos con los hallazgos de otros autores (97, 109, 128, 155, 181) que afirman que los niveles del lactato permanecen dentro de límites normales mientras la hepatopatía se mantiene estabilizada y en situación de buena compensación clínico-metabólica.

La relación del pH plasmático con el contenido en 2,3-DPG (mM) de los hematíes parece mucho más importante que aquella que existe entre el fosfoderivado y los otros dos factores —la anemia y la hipoxemia— hasta ahora comentados. En nuestro grupo C de enfermos cirróticos la correlación se establece a un nivel altamente significativo ($p < 0.001$), con un coeficiente igual a 0.4827 y una recta de regresión definida por la ecuación: $2,3\text{-DPG (mM)} = 12 \text{ pH} - 81.7$ (tabla 26 y Fig. 13). Reflejo de esta correspondencia entre el pH plasmático y el fosfoglicerato eritrocitario es la notable correlación ($p < 0.05$) que también se consigue poner de manifiesto entre la pCO_2 de la sangre arterial y el 2,3-DPG (mM) de los hematíes (tabla 26), ya que, a su vez, la pCO_2 y el pH —como es lógico— se encuentran relacionados entre sí ($p < 0.01$) en este grupo de pacientes (Fig. 11). Queremos indicar otra vez aquí —como ya hicimos en el capítulo de Material y Métodos— que hemos incurrido, conscientemente, en un error de cálculo al no transformar, antes de efectuar el análisis estadístico, las unidades de pH (de escala logarítmica) en unidades de concentración de hidrogeniones (de escala decimal); la alteración analítica que con ello introducimos es pequeña debido —ya lo comentábamos entonces— a los estrechos márgenes entre los que varía el pH de la sangre.

La influencia del pH plasmático sobre la concentración eritrocitaria del 2,3-DPG en la cirrosis hepática ha sido examinada también en algún otro trabajo (15, 117, 175, 233). Thomas et al. (233) encuentran, en 14 casos, una significativa correlación ($p < 0.01$) entre ambos parámetros, con un coeficiente igual a 0.67. Astrup y Rorth (15) objetivan, en 26 enfermos, una relación estadística aún mejor ($p < 0.001$), con un coeficiente igual a 0.75. Estos hallazgos son, en líneas generales, similares a los obtenidos por nosotros, tal y como acabamos de comprobar. En algunos estudios se ha indicado que determinadas circunstancias especiales, insertas en el curso de las

hepatopatías crónicas —la acidosis metabólica por shock hipovolémico (175), la transfusión de grandes volúmenes de sangre (62, 117, 175), la gran esplenomegalia por hipertensión portal con la consiguiente acidosis intraesplénica (166), etc.— podrían alterar la normal relación de dependencia entre el pH y el 2,3-DPG; nosotros, por este motivo, siempre hemos tratado de evitarlas al seleccionar a nuestros enfermos. Pero, salvo en tales circunstancias, el pH plasmático desarrolla un efecto mucho más importante que el de la anemia o el de la hipoxemia en lo que se refiere a la regulación de la tasa del fosfoderivado en la cirrosis hepática. La alcalosis respiratoria —la anomalía del equilibrio ácido-base más habitual en esta situación clínica— es, por ello, la causa principal determinante de la elevación de los niveles de 2,3-DPG eritrocitario en los enfermos cirróticos. Aunque estos pacientes presentan con relativa frecuencia anemia, hipoxemia y alcalosis, y a pesar de que cualquiera de estos tres trastornos puede incrementar “per se” la tasa del fosfoglicerato, es sin duda el último —la alcalosis— el que colabora más decisivamente en este sentido. A esta conclusión hemos llegado nosotros en nuestro estudio, en el que hemos pretendido desarrollar esta hipótesis, ya sugerida por otros autores con anterioridad (15, 117, 233). En resumen, nosotros pensamos que la alcalosis es el factor responsable que nos explica por qué los enfermos cirróticos presentan, para cualquier nivel de Hb circulante, una concentración de 2,3-DPG superior a la que es posible evidenciar en el resto de las situaciones clínicas caracterizadas también por anemia. Y es en virtud de esta secuencia que acabamos de razonar como podemos comprender la peculiar disposición de estos enfermos en la Fig. 21, disposición que no es sino una expresión más de cómo el pH contribuye a que el contenido en 2,3-DPG de los hematíes en ellos sea superior al que les correspondería por su grado de anemia. Nosotros —y en esto coincidimos con otros autores (15, 115, 175)— no hemos conseguido demostrar que los niveles de fosfato sérico inorgánico tengan importancia alguna al respecto en estos casos (tablas 23, 26 y 27).

La cirrosis hepática es un claro ejemplo del grado de dificultad que puede alcanzar el análisis de las alteraciones del 2,3-DPG en situaciones clínicas complejas.

V. Enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (Grupo B)

En nuestros 44 enfermos diagnosticados de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (34 hombres y 10 mujeres), que han sido estudiados en total en 47 ocasiones distintas (grupo B), hemos encontrado una concentración media eritrocitaria de 2,3-DPG de 5.29 ± 1.13 mM (16.48 ± 3.50 μ moles/g Hb) (tabla 29). Este valor es superior ($p < 0.001$), desde un punto de vista estadístico, al hallado en nuestro grupo de controles normales (grupo N: 4.54 ± 0.57 mM) (tabla 30 y Fig. 15).

En la tabla 45 exponemos, de forma resumida, los resultados de otros trabajos de la literatura en los que también se ha analizado este mismo problema. Aunque el número total de enfermos es-

Tabla 45: Niveles medios de 2,3-DPG eritrocitario en enfermos con bronconeumopatía crónica obstructiva, según los trabajos de diversos autores de la literatura. Signos y abreviaturas como en la tabla 40.

Autor	n	Hb	Hcto	pH	pO ₂	pCO ₂	2,3-DPG		
		(g %)	(%)	--	(mm Hg)	(mm Hg)	(mM)	(μmoles/g Hb)	(moles/mol Hb)
1. Denis et al., 1977 (63)	9	15.9 ± 0.8	54 ± 3	↑7.30	↓60	↑50	--	--	1.05 ± 0.1
	7	11.6 ± 1.7	40 ± 4	↑7.30	↓60	↑50	--	--	1.02 ± 0.1
	7	13.3 ± 0.9	44 ± 2	↑7.30	60 ↔ 70	↑50	--	--	1.11 ± 0.2
2. Eaton et al., 1970 (75)	9	15.6 ± 1.7	--	--	--	--	--	19.47 ± 7.42	--
3. Farber et al., 1979 (82)	10	14.6	45	≈7.41	54	39	--	16.50 ± 2.80	--
4. Flenley et al., 1975 (84)	10	--	--	--	48 ± 7	59 ± 11	--	13.20 ↔ 18.90	--
5. Keitt et al., 1974 (118)	12	15.9 ± 1.7	--	7.41 ± 0.05	51 ± 3	44 ± 6	--	15.70 ± 4.00	--
6. Oski et al., 1969 (162)	5	--	--	--	--	--	5.25 ± 0.40	--	--
7. Palenciano et al., 1978 (167)	25	↑14.0	52 ± 7	7.39 ± 0.04	51 ± 13	49 ± 9	--	15.59 ± 1.90	--
8. Sánchez Varela, 1975 (201)	24	15.8 ± 1.9	50 ± 7	--	--	--	5.96 ± 0.96	--	--
9. Nosotros, 1980	47	16.4 ± 2.2	51 ± 7	7.36 ± 0.06	58 ± 14	56 ± 16	5.29 ± 1.13	16.48 ± 3.50	--

tudiados es, en general, escaso, la mayoría de los autores (38, 63, 75, 82, 84, 103, 118, 162, 167, 201, 251) coinciden al afirmar que en los procesos broncopulmonares obstructivos crónicos los niveles intraglobulares del fosfoglicerato suelen estar elevados; sin embargo, también en casi todas las publicaciones en las que el tema ha sido revisado en profundidad (38, 63, 84, 103, 118, 162, 167, 181, 201, 258) se comenta la posibilidad de que algunos enfermos presenten un 2,3-DPG normal o incluso algo disminuido. También nosotros hemos tenido ocasión de comprobar este mismo fenómeno en nuestros casos. Aunque en nuestro grupo B de pacientes respiratorios crónicos el nivel medio del organofosfato se encuentra algo elevado en comparación con el de los controles normales, es evidente, no obstante, que existen algunos pacientes en los que la tasa del fosfoderivado está, por el contrario, disminuida (tablas 28 y 29). Diversas hipótesis han sido postuladas a la hora de explicar esta peculiar circunstancia. En ocasiones, se ha sugerido que el 2,3-DPG debiera de aumentar en razón directa con la caída de la pO_2 arterial; tal elevación no sería sino un mecanismo más de adaptación del organismo a la hipoxia hística propia de la enfermedad respiratoria crónica. Sin embargo, sólo en muy pocos trabajos (38, 103, 118, 258) se ha llegado a demostrar la existencia de una correlación estadísticamente significativa entre la pO_2 arterial o la saturación de oxígeno de la hemoglobina y el 2,3-DPG; nosotros tampoco hemos conseguido objetivarla (tabla 31). Además, en algunos estudios (38, 63, 82, 118, 167), en los que la selección de los enfermos ha sido efectuada con el criterio de admitir sólo aquellos casos en los que la hipoxemia fuese manifiesta (en general por debajo de los 60 mm Hg), también se ha comprobado cómo la tasa del fosfoéster se encontraba, en bastantes ocasiones, dentro de límites normales y no por encima de ellos, como quizás cabría esperar. En nuestro estudio —con una pO_2 media para el grupo B de 58.65 ± 14.96 mm Hg y una SaO_2 media de 86.95 ± 8.79 % (tabla 29)— tampoco hemos podido demostrar que las hipoxemias más severas acompañasen sistemáticamente a los valores de 2,3-DPG más elevados, ni que, a la inversa, estos últimos se correspondieran siempre con las pO_2 más bajas (tabla 28). En conclusión, no parece que en las bronconeumopatías crónicas obstructivas las modificaciones en los niveles del 2,3-DPG eritrocitario dependan, por lo menos de modo esencial, o únicamente, de la severidad de la hipoxemia asociada. Deben de existir, además, otros factores con una indudable y quizás mayor importancia al respecto.

Se ha pensado que los trastornos en el equilibrio ácido-base —la acidosis respiratoria sobre todo—, cuya aparición es relativamente frecuente en el curso de la enfermedad respiratoria crónica (18, 38, 63, 99, 162, 167, 201, 233), debieran de ejercer una marcada influencia sobre la concentración del fosfoéster en esta situación clínica; en tal sentido se ha sugerido que un eventual descenso del pH plasmático, ocasionado por la agudización del proceso de base, impediría la correcta respuesta compensadora del 2,3-DPG eritrocitario a la hipoxia hística (38, 63, 82, 103, 118, 162, 167, 201, 251, 258). Sin embargo, han sido excepción los trabajos (103) en los que se ha podido demostrar la existencia de una correlación estadísticamente significativa entre el pH plasmático y el contenido en el fosfoglicerato de los hematíes; nosotros tampoco hemos conseguido establecer

correlación alguna que tuviera validez desde un punto de vista matemático (tabla 31). Es cierto, no obstante, que los únicos tres enfermos de nuestro trabajo en los que hemos detectado una acidosis respiratoria en el momento del estudio (con unos valores arteriales de pH de 7.14, 7.19 y 7.28 y de $p\text{CO}_2$ de 65, 125 y 62 mm Hg, respectivamente) han presentado, en general, niveles de 2,3-DPG descendidos (tabla 28). Conviene recordar, por el contrario, que otros muchos casos con tasas normales o bajas del fosfoéster se han asociado con valores normales o incluso algo elevados de pH (tabla 28); finalmente, cabe mencionar que la cifra media del pH plasmático (7.36 ± 0.06) para nuestro grupo B, de enfermos respiratorios crónicos, ha sido normal (tabla 29), por tratarse habitualmente de casos en una situación estable desde el punto de vista clínico. En este mismo sentido, algunos estudios (38, 63, 82, 118, 167, 251), que han seleccionado a los pacientes con el criterio de que su pH plasmático fuera rigurosamente normal, han seguido encontrando casos en los que, a pesar de todo, los niveles del 2,3-DPG eran normales o incluso bajos.

La tasa de Hb circulante es el tercer factor —además de la $p\text{O}_2$ arterial y del pH plasmático— al que se ha hecho referencia cuando se ha valorado la situación del 2,3-DPG eritrocitario en los enfermos respiratorios crónicos (63, 84, 103, 118, 167, 201). Es interesante, a este respecto, el trabajo de Denis et al. (63) en el que se ha comparado el comportamiento del fosfoéster en tres grupos diferentes de pacientes, con distintos niveles de Hb y de $p\text{O}_2$. Los mencionados autores (63) sugieren que las modificaciones en la concentración del 2,3-DPG en estos casos no dependen tanto de la severidad de la hipoxemia como de la magnitud de la poliglobulia secundaria. En este mismo sentido, en algunos estudios (103), se ha conseguido poner de manifiesto una estrecha correlación entre la Hb ó el Hcto y el fosfoglicerato. En nuestro grupo B de enfermos respiratorios crónicos (con unos índices medios de Hb y de Hcto de 16.43 ± 2.24 g % y de 51.68 ± 7.22 % (tabla 29), respectivamente) esta correlación, sin embargo, no ha podido ser establecida a un nivel significativo desde el punto de vista estadístico (tabla 31). No obstante, al unificar los dos factores hasta ahora mencionados —la Hb y la $p\text{O}_2$ — en un nuevo parámetro —el contenido arterial de oxígeno ó CaO_2 —, que de alguna manera integra en un sólo valor sus respectivas variaciones, comprobamos cómo la relación entre este último —el CaO_2 — y el 2,3-DPG (mM) adquiere una notable validez matemática ($n = 42$; $r = -0.3520$; $p < 0.05$; $2,3\text{-DPG} = -0.114 \text{ CaO}_2 + 7.5$) (tabla 31 y Fig. 16), la cual es aún más manifiesta cuando la concentración del fosfoéster se expresa en el sistema de unidades "µmoles/g Hb" ($n = 42$; $r = -0.4500$; $p < 0.01$; $2,3\text{-DPG} = -0.473 \text{ CaO}_2 + 25.6$) (tabla 32). La importancia de introducir este nuevo factor —el CaO_2 — en el estudio de las enfermedades caracterizadas por alteraciones diversas en la homeostasis del transporte de oxígeno creemos que es manifiesta; el CaO_2 integra en un sólo parámetro a variables tales como la Hb, la $p\text{O}_2$ y la SaO_2 , y permite, por ello, que la estimación de las posibilidades de dicho transporte se ajuste mucho mejor a la realidad fisiológica; la disponibilidad de oxígeno a nivel tisular puede así valorarse con mucha mayor precisión. No es extraño, por tal motivo, que surja una co-

rrelación significativa entre el 2,3-DPG y el CaO_2 , cuando, sin embargo, no existía entre el fosfoderivado y la Hb, la pO_2 o la SaO_2 , respectivamente.

Tampoco cabe sorprenderse por el hecho de que los niveles medios de la Hb (16.43 ± 2.24 g %) y de la pO_2 (58.65 ± 14.96 mm Hg) del grupo B —altos y bajos, respectivamente— se combinen para dar un nivel medio normal de el CaO_2 (19.35 ± 3.37 ml %) (tabla 29), nivel que expresa mucho mejor que cualquiera de los otros dos la capacidad de la sangre para transportar el oxígeno.

En resumen, creemos que en la valoración funcional del enfermo respiratorio crónico, junto a parámetros ya clásicos (pH plasmático, gases respiratorios, saturación arterial y venosa de oxígeno, índices de Hb y de Hcto, etc.), deben de analizarse otros (2,3-DPG, CaO_2 , p50) que, indudablemente, han de aportar valiosos datos en el manejo clínico de estos enfermos. La determinación simultánea del CaO_2 con la del 2,3-DPG será de gran ayuda en todas aquellas situaciones —ya lo habíamos comentado al hablar de la cirrosis hepática— en las que coexisten anomalías en la tasa de Hb circulante con alteraciones en la pO_2 arterial. Alcanzaremos, de esta forma, a comprender mucho mejor la fisiopatología del transporte del oxígeno en ese tipo de trastornos y, por ende, a interpretar mucho más adecuadamente la función compensadora del fosfoglicerato como mecanismo de adaptación a la hipoxia.

En conclusión, pensamos que los niveles intraeritrocitarios del 2,3-DPG se encuentran elevados en las bronconeumopatías crónicas obstructivas, si bien la magnitud de esta elevación es menor de la que es posible observar en otras situaciones clínicas caracterizadas también por una deficiente oxigenación de los tejidos; la valoración sistemática de factores tales como la acidosis respiratoria o la poliglobulia secundaria pueden ayudarnos a entender más profundamente y a descifrar este aparente contrasentido.

VI. Insuficiencias renales crónicas (Grupo R)

En los 30 enfermos diagnosticados de insuficiencia renal crónica severa (IRC) (13 hombres y 17 mujeres) (grupo R) hemos encontrado una concentración media eritrocitaria de 2,3-DPG de 6.65 ± 1.17 mM (22.68 ± 5.72 $\mu\text{moles/g Hb}$) (tabla 34). Este valor es francamente superior ($p < 0.001$) al que hemos hallado en nuestros controles normales (grupo N: 4.54 ± 0.57 mM) y también ($p < 0.005$) al que se objetiva en el grupo de enfermos diagnosticados de "anemia simple" (grupo A: 5.79 ± 1.02 mM) (tabla 35). Estas diferencias estadísticas tienen su origen en los distintos niveles medios de Hb y de Hcto que presenta cada uno de dichos grupos. En el grupo N los valores medios de ambos parámetros hemáticos (Hb = 14.29 ± 1.61 g % y Hcto = 43.74 ± 4.20 %) son normales y, por lo tanto, muy superiores ($p < 0.001$) a los que se evidencian en el grupo R (Hb = 7.05 ± 2.03 g % y Hcto = 23.73 ± 5.86 %) (tabla 35). Es decir, los enfermos renales cró-

nicos del grupo R tienen anemia, en mayor o menor grado —expresión del proceso patológico de base—, la cual precisa para su compensación un incremento en las tasas eritrocitarias del fosfoglicerato (tabla 33). En el grupo A —de enfermos anémicos no urémicos— también es posible apreciar, obviamente, un descenso en los niveles medios de la Hb (10.07 ± 1.72 g %) y del Hcto (32.92 ± 5.10 %), descenso que, sin embargo, no es tan acusado ($p < 0.001$) como el que acabamos de referir en los enfermos renales (tabla 35); por ello, parece lógico que el contenido globular en 2,3-DPG de los primeros —grupo A— sea menor al que se objetiva en los segundos —grupo R—, tal y como hemos comentado más arriba. A este respecto puede afirmarse que los enfermos urémicos crónicos responden a la anemia, por lo que el 2,3-DPG se refiere, de forma adecuada. En la Fig. 21 se puede comprobar este mismo fenómeno, pero desde un punto de vista más amplio: los pacientes del grupo R se sitúan alrededor de la recta de regresión entre la Hb y el 2,3-DPG (mM), con una disposición muy similar a la de los sujetos anémicos no urémicos, aunque algo más desplazada hacia la izquierda, como corresponde a su mayor grado de anemia.

En la tabla 46 se resumen esquemáticamente los hallazgos de otros autores que se han ocupado de este mismo tema. En general, casi todos los investigadores (56, 114, 135, 136, 148, 158, 174, 252) refieren haber encontrado en sus casos una elevación en los niveles medios eritrocitarios del 2,3-DPG. La magnitud de dicha elevación, no obstante, es muy variable de unos estudios a otros; esta aparente contradicción puede, quizás, explicarse si tenemos en cuenta que las condiciones basales y la situación metabólica de los enfermos analizados en cada trabajo son muy diferentes entre sí. Efectivamente, aunque la anemia está presente en todos los casos, su influencia sobre el fosfoéster es muy distinta en cada uno de ellos, ya que está modulada por otros dos factores —el pH plasmático y la fosfatemia—, eventualmente alterados en el curso de la insuficiencia renal crónica y cuya importancia, como elementos reguladores de los niveles intracorpúsculares del 2,3-DPG, ya hemos examinado en detalle en la Introducción de este trabajo (apartado E-IV); el efecto de la acidosis —que hace que tales niveles disminuyan— se opone al de la anemia y al de la hiperfosfatemia —factores los dos que tienden a aumentarlos— (56, 135, 136, 148, 158, 174). Se comprende así por qué la tasa del fosfoglicerato puede no ser igual en dos grupos distintos de enfermos urémicos, aunque ambos presenten el mismo grado de déficit en masa eritrocítica; se ha de considerar, además, la situación del equilibrio ácido-base y la homeostasis del fosfato inorgánico. A este respecto conviene recordar que en los pacientes incluidos en un programa de hemodiálisis periódica puede aparecer, en ocasiones, una hipofosfatemia —como consecuencia de un tratamiento prolongado con hidróxido de aluminio por vía oral— que actuará sinérgicamente con la acidosis, disminuyendo el contenido en 2,3-DPG de los hematíes (56, 99, 158).

La importancia de la anemia como factor regulador de los niveles del glicerofosfato en la insuficiencia renal crónica parece indudable; diversos trabajos (56, 114, 135, 136, 148, 158, 174) apoyan esta hipótesis. Ninness et al. (158) han encontrado, en 45 determinaciones efectuadas en fase de prediálisis en 16 adultos incluidos en un programa de depuración extrarrenal, una sig-

Tabla 46: Niveles medios de 2,3-DPG eritrocitario en enfermos con insuficiencia renal crónica, según los trabajos de diversos autores de la literatura. Signos y abreviaturas como en la tabla 40.

Autor	n	Hb (g %)	Hcto (%)	pH —	pO ₂ (mm Hg)	pCO ₂ (mm Hg)	2,3-DPG (mM)	2,3-DPG (μmoles/g Hb)
1. Chillar y Desforges, 1974 (56)	24	5.6 ↔ 8.5	19 ↔ 28	7.40 (7.35 ↔ 7.46)	—	—	—	19.10 (15.77 ↔ 21.80)
2. Lichtman y Miller, 1970 (135)	16	—	26 ± 6	—	—	—	5.71 ± 1.4	—
3. Lichtman et al., 1974 (136)	10	7.2 ± 1.1	—	7.40 ± 0.05	—	—	—	16.20 ± 2.90
4. Miller et al., 1974 (148)	26	6.9 ± 1.5	20 ± 4	7.37 ± 0.07	—	—	—	14.50 ± 2.80
5. Ninness et al., 1974 (158)	45	5.3 ± 0.6	—	7.33 ± 0.06	—	—	—	17.84 ± 5.63
6. Raich et al., 1973 (174)	25	—	21 ± 5	7.33 ± 0.05	—	—	5.86 ± 2.25	—
7. Sánchez Varela, 1975 (201)	18	—	27 ± 8	—	—	—	4.70 ± 1.48	—
8. Nosotros, 1980	30	7.0 ± 2.0	23 ± 5	7.32 ± 0.04	91 ± 19	32 ± 11	6.65 ± 1.17	22.68 ± 5.72

nificativa correlación entre la Hb y el 2,3-DPG, con un coeficiente igual a -0.271 y una recta de regresión definida por la ecuación: $2,3\text{-DPG } (\mu\text{moles/g Hb}) = -1.0 \text{ Hb (g \%)} + 23.32$. Nosotros, en 30 estudios realizados en enfermos distintos (sólo 20 de los cuales estaban sometidos a hemodiálisis periódica), también hemos hallado una notable correlación estadística entre ambos parámetros —el pigmento respiratorio y el fosfoderivado glicolítico—, cuyos datos numéricos varían en relación con el sistema de unidades elegido para expresar la concentración del 2,3-DPG. En el sistema "mM" el análisis matemático ofrece los siguientes resultados: $n = 30$; $r = -0.4227$; $p < 0.05$; $2,3\text{-DPG (mM)} = -0.243 \text{ Hb (g \%)} + 8.3$ (tabla 36); si, por el contrario, se utiliza el sistema " $\mu\text{moles/g Hb}$ " obtenemos los datos siguientes: $n = 30$; $r = -0.5556$; $p < 0.001$; $2,3\text{-DPG } (\mu\text{moles/g Hb}) = -1.56 \text{ Hb (g \%)} + 33.7$ (tabla 37). La semejanza de estos últimos resultados con los referidos por Ninness et al. (158) es evidente.

En algunas ocasiones (56, 135, 136, 158, 201, 252) se ha sugerido que los enfermos afectados de una insuficiencia renal crónica no dispondrían de un adecuado mecanismo de compensación de la anemia; para un mismo déficit de masa eritrocítica la tasa del 2,3-DPG sería inferior en ellos a la que les correspondería por su nivel de Hb circulante, por lo cual la gravedad de la anemia sería entonces mayor. Nosotros no hemos podido comprobar este supuesto en nuestros casos. Efectivamente, si en la ecuación de la recta de regresión entre el 2,3-DPG (mM) y la Hb ($2,3\text{-DPG (mM)} = -0.34 \text{ Hb (g \%)} + 9.2$), calculada como propia de los pacientes diagnosticados de "anemia simple" (grupo A) (tabla 9 y Fig. 6), sustituimos la cifra de Hb de cada uno de nuestros 30 pacientes urémicos obtendremos el valor teórico del fosfoglicerato que le correspondería a cada uno de ellos por su grado de anemia. La media aritmética de todos los valores teóricos así calculados ha sido de 6.80 ± 0.69 mM. Este valor medio teórico (VT) para el grupo R de enfermos renales crónicos no difiere, desde un punto de vista estadístico, del valor medio real de 2,3-DPG (6.65 ± 1.17 mM) determinado para dicho grupo (Fig. 17). Es decir, a este respecto, la anemia que presentan nuestros casos se compensa adecuadamente por el mecanismo del 2,3-DPG.

Esta aparente discrepancia entre nuestros hallazgos y los referidos en ocasiones por otros autores (56, 135, 136, 158, 201) encuentra su explicación cuando consideramos la situación del equilibrio ácido-base de los enfermos estudiados en cada trabajo. La acidosis metabólica, frecuentemente asociada a la insuficiencia renal crónica, tiende a que los niveles eritrocitarios del fosfoéster disminuyan y, por lo tanto, a que los valores alcanzados no sean los justos ni los que lógicamente cabría esperar por el grado de anemia presente en cada caso. Se reconoce así en aquella —la insuficiencia renal crónica—, como en otras situaciones clínicas ya comentadas, la importancia del pH plasmático como factor regulador del contenido en 2,3-DPG de los hematíes.

A este respecto es interesante observar cómo en nuestros casos —en los que los valores medios del pH plasmático, de la $p\text{CO}_2$ y del bicarbonato sérico han sido de 7.32 ± 0.04 , de 32 ± 11 mm Hg y de 19.90 ± 4.83 mEq/l, respectivamente (tabla 34)— es posible establecer una fuerte correlación ($p < 0.01$) entre el 2,3-DPG (mM ó $\mu\text{moles/g Hb}$) y el pH; en el sistema de unida-

des "mM" los datos estadísticos son los siguientes: $n = 10$; $r = 0.7251$; $p < 0.01$; $2,3\text{-DPG (mM)} = 12.3 \text{ pH} - 84$ (tabla 36 y Fig. 19); en el sistema "μmoles/g Hb" los resultados, en cambio, son estos otros: $n = 10$; $r = 0.7328$; $p < 0.01$; $2,3\text{-DPG (μmoles/g Hb)} = 35.6 \text{ pH} - 242$ (tabla 37). Recordamos una vez más aquí que en el análisis matemático no hemos transformado las unidades de pH en unidades de concentración de hidrogeniones, por considerar, por las razones ya expuestas, que el error que con ello introducimos es prácticamente despreciable.

Reflejo de la relación entre el 2,3-DPG y el pH plasmático es también la correlación que se demuestra en nuestros enfermos renales entre el fosfoderivado glicolítico y el bicarbonato sérico ["mM": $n = 30$; $r = 0.5358$; $p < 0.01$; $2,3\text{-DPG (mM)} = 0.13 \text{ CO}_3\text{H}^- \text{ (mEq/l)} + 4$ (tabla 36 y Figura 18). "μmoles/g Hb": $n = 30$; $r = 0.4279$; $p < 0.05$; $2,3\text{-DPG (μmoles/g Hb)} = 0.506 \text{ CO}_3\text{H}^- \text{ (mEq/l)} + 12.6$ (tabla 37)].

En los escasos estudios (158, 174) que han analizado este aspecto del tema también se ha encontrado una estrecha correspondencia entre el glicerofosfato y el pH. Ninness et al. (158) han hallado un valor para el coeficiente igual a 0.476, con una recta de regresión definida por la ecuación: $2,3\text{-DPG (μmoles/g Hb)} = 40.42 \text{ pH} - 279.12$. Estos resultados son muy similares a los nuestros.

El tercer factor —además de la Hb y del pH— que puede afectar a la concentración eritrocitaria del 2,3-DPG en la insuficiencia renal crónica es el fosfato sérico inorgánico. Nosotros hemos objetivado en nuestros enfermos una significativa mutua dependencia entre la fosfatemia —cuyo nivel medio para el grupo R ha sido de $4.48 \pm 1.68 \text{ mg } \%$ (tabla 34)— y el fosfoglicerato ["mM": $n = 30$; $r = -0.4592$; $p < 0.01$; $2,3\text{-DPG (mM)} = -0.321 \text{ P (mg } \%) + 8$ (tabla 36). "μmoles/g Hb": $n = 30$; $r = -0.5926$; $p < 0.001$; $2,3\text{-DPG (μmoles/g Hb)} = -2.02 \text{ P (mg } \%) + 31.7$ (tabla 37)]. Hallazgos similares han sido referidos por algunos autores (135), pero no han sido, por el contrario, confirmados por otros (56, 136, 158). La explicación creemos que se encuentra en la diferente situación metabólica de los pacientes estudiados en cada uno de los diversos trabajos.

En conclusión, los niveles eritrocitarios del 2,3-DPG están elevados en los enfermos renales crónicos; la anemia parece ser el factor que inicialmente induce y regula esta elevación, la cual, después, va a ser modulada por el pH plasmático. La acidosis metabólica, frecuentemente asociada a la insuficiencia renal crónica, frena la síntesis del fosfoderivado glicolítico, con lo que la adaptación a la anemia, de aparición habitual en el curso de la enfermedad, se realiza con menor eficacia. De ahí la importancia de mantener el pH plasmático dentro de límites normales en el enfermo urémico crónico.

Además de los 30 estudios a los que nos hemos referido hasta este momento y que hemos efectuado en 30 sujetos diferentes, afectos todos ellos de una insuficiencia renal crónica, hemos realizado otras 38 determinaciones analíticas distintas en 19 enfermos (8 hombres y 11 mujeres) incluidos en un programa de hemodiálisis periódica. Esos 38 exámenes son el resultado de 19 es-

tudios previos y 19 posteriores a una sesión de diálisis; es decir, cada paciente ha sido valorado en dos ocasiones diferentes, separadas únicamente por un corto espacio de tiempo, variable entre las cuatro y las ocho horas (la duración de la diálisis).

Nosotros no hemos conseguido demostrar que la tasa del 2,3-DPG sufriese modificación significativa alguna a lo largo del período de diálisis; el fosfoglicerato ha experimentado una discreta elevación, desde 6.71 ± 1.27 mM (22.16 ± 4.20 μ moles/g Hb) a 6.76 ± 0.83 mM (24.12 ± 2.75 μ moles/g Hb), que carece de valor estadístico (tabla 39 y Fig. 20). Otros parámetros hemáticos (el Hcto, el P, el CO_3H^- , el K^+) estudiados simultáneamente, en cambio, sí han sufrido una variación notable, desde el punto de vista del análisis matemático, durante la sesión hemodepuradora (tabla 39), sin que ello haya repercutido sobre los niveles del 2,3-DPG.

Nuestros hallazgos a este respecto coinciden con los referidos por algunos autores (56, 114, 174), pero discrepan de los publicados por otros (136, 148, 158). Este aparente contrasentido pensamos que puede explicarse si se valoran circunstancias tales como la diferente duración de las sesiones de depuración extrarrenal a las que han sido sometidos los enfermos en cada uno de los distintos estudios, la situación metabólica de cada paciente al iniciarse el tratamiento de diálisis (sobre todo por lo que al pH, al CO_3H^- y al P se refiere), la terapéutica seguida durante el período entre tales sesiones, el grado de anemia de cada enfermo, etc. En cualquier caso, la interpretación de los resultados y de las interacciones entre los diversos parámetros no es nada fácil, ya que el efecto final es la combinación de varias influencias independientes.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. La determinación de la concentración intraeritrocitaria del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) es una investigación de gran utilidad clínica, entre otros motivos, porque nos indica y ayuda a precisar cuál es el grado de compensación con que el hematíe responde ante un insuficiente aporte de oxígeno a los tejidos, bien por una reducción en la cuantía de su molécula transportadora —la hemoglobina— o bien por un incremento en las necesidades a nivel celular.
2. El método del ácido cromotrópico de Bartlett para la determinación del contenido en 2,3-DPG del hematíe es una técnica relativamente sencilla, reproducible, precisa y económica, como hemos tenido oportunidad de comprobar después de 200 ensayos consecutivos con ella.
3. Después del estudio de 120 personas sanas podemos concluir que los niveles normales del 2,3-DPG intraeritrocitario para la población española son de 4.54 ± 0.57 micromoles/mililitro de hematíes o de 13.98 ± 2.05 micromoles/gramo de hemoglobina.
4. En muestras amplias de población es posible evidenciar una significativa correlación entre la tasa de hemoglobina circulante y la concentración de 2,3-DPG del hematíe, como hemos podido demostrar después del estudio de 120 sujetos sanos, de 76 enfermos tiroideos analizados en 100 ocasiones distintas, de 60 pacientes diagnosticados de cirrosis hepática, de 40 casos de anemia de diverso origen, de 44 enfermos respiratorios crónicos y de 39 pacientes afectados de una insuficiencia renal crónica severa que fueron examinados en 68 ocasiones diferentes.
5. La elevación en la concentración intraeritrocitaria del 2,3-DPG que aparece en las anemias de instauración crónica de diversa etiología (5.79 ± 1.02 micromoles/mililitro de hematíes en nuestros 40 casos) actúa como un mecanismo más de adaptación del propio hematíe a la deficiencia en masa eritrocítica, como queda demostrado por la estrecha correlación ($p < 0.001$) que existe entre la tasa de hemoglobina circulante y el contenido eritrocitario en 2,3-DPG.
6. En el hipertiroidismo existen unos niveles elevados de 2,3-DPG (5.66 ± 0.69 micromoles/mililitro de hematíes en nuestros 35 casos frente a 4.54 ± 0.57 micromoles/mililitro en los 120 sujetos sanos) cuyo origen no parece que se pueda atribuir a una disminución en la masa eri-

trocítica, sino que más bien se debe de poner en relación con un aumento en las necesidades periféricas de oxígeno.

7. Los elevados niveles de 2,3-DPG eritrocitario que se demuestran en el hipertiroidismo disminuyen progresivamente durante el tratamiento de la enfermedad y llegan a normalizarse cuando lo hacen los niveles de tiroxina y triyodotironina circulantes, es decir, cuando se consigue la corrección de la situación de hiperfunción glandular. Esta marcada relación de dependencia que es posible apreciar entre las hormonas tiroideas y el contenido en 2,3-DPG del hematíe no parece estar mediada por variaciones en el índice hematocrito o en la tasa de hemoglobina circulante.
8. En el hipotiroidismo la concentración eritrocitaria de 2,3-DPG se encuentra dentro de los límites normales, salvo que exista anemia.
9. En la cirrosis hepática se demuestra un notable aumento en los niveles intraeritrocitarios del 2,3-DPG (7.40 ± 1.23 micromoles/mililitro de hematíes en nuestros 60 casos), muy superior al que correspondería por el grado de anemia que presenta cada enfermo. Esta elevación en el 2,3-DPG parece estar en relación con la alcalosis respiratoria, de frecuente aparición en estos casos, como se deduce de la existencia de una significativa correlación ($p < 0.001$) entre el pH plasmático y el 2,3-DPG; la relación de dependencia con la hipoxemia ($p < 0.05$) o con la hipocarbía ($p < 0.05$) parece ser menos importante.
10. En la enfermedad pulmonar obstructiva crónica la concentración eritrocitaria de 2,3-DPG se encuentra elevada (5.29 ± 1.13 micromoles/mililitro de hematíes en nuestros 47 casos), lo que interpretamos como un mecanismo más de adaptación del organismo a la hipoxia y que actuaría sinérgicamente con la poliglobulia secundaria. Esta elevación no se produce cuando existe una acidosis respiratoria. En estos enfermos respiratorios crónicos se puede demostrar una significativa correlación ($p < 0.05$) entre el contenido arterial de oxígeno y los niveles intraeritrocíticos de 2,3-DPG.
11. En la insuficiencia renal crónica severa se objetiva un notable incremento en el contenido en 2,3-DPG del hematíe (6.65 ± 1.17 micromoles/mililitro de eritrocitos en nuestros 30 casos), ligeramente inferior, sin embargo, al que correspondería por el grado de anemia que presenta cada enfermo. Parece indudable que el posible factor inhibidor de la síntesis del 2,3-DPG en estos casos es la acidosis metabólica que aparece en algunos enfermos. En la insuficiencia renal crónica es posible evidenciar una estrecha correlación entre el pH plasmático y el 2,3-DPG eritrocitario ($p < 0.01$), así como entre este último y la concentración sérica de bicarbonato ($p < 0.01$).

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. ABAD IGLESIAS, R.: Manual de estadística médica. Sección Científica de CEPA, S. A., Madrid, 1977.
2. ABELMANN, W. H., KRAMER, G. E., VERSTRAETEN, J. M., GRAVALLESE, M. A. Jr., McNEELY, W. F.: Cirrhosis of the liver and decreased arterial oxygen saturation. *Archives of Internal Medicine*, 108: 102-108, 1961.
3. ABERMAN, A., CAVANILLES, J. M., WEIL, M. H., SHUBIN, H.: Blood p50 calculated from a single measurement of pH, pO₂, and SO₂. *Journal of Applied Physiology*, 38: 171-176, 1975.
4. ADAMSON, J. W.: Familial Polycythemia. *Seminars in Hematology*, 12: 383-396, 1975.
5. AGOSTINI, A., STABILINI, R., BERNASCONI, C., GERLI, G. C.: The oxyhemoglobin dissociation curve in hypercapnic patients. *American Heart Journal*, 87: 670-672, 1974.
6. ALBALA, M. M., FORTIER, N. L., GLADER, B. E.: Physiologic features of hemolysis associated with altered cation and 2,3-diphosphoglycerate content. *Blood*, 52: 135-141, 1978.
7. ALBERTI, K. G. M. M., DARLEY, J. H., EMERSON, P. M., HOCKADAY, T. D. R.: 2,3-diphosphoglycerate and tissue oxygenation in uncontrolled diabetes mellitus. *Lancet*, 2: 391-395, 1972.
8. ALBERTI, K. G. M. M., EMERSON, P. M., DARLEY, J. H., HOCKADAY, T. D. R.: Red-cell 2,3-diphosphoglycerate and diabetes. *Lancet*, 1: 843-844, 1972.
9. ANTONINI, E., BRUNORI, M.: Hemoglobin and Methemoglobin. En "The Red Blood Cell". Ed. D. M. Surgenor. 2nd edition. Volume II. Chapter 17, pp. 753-797. Academic Press. New York. 1975.
10. ARNAUD, J., VERGNES, H., GOURDIN, D., GUTIERREZ, N.: Enzimas eritrocitarios y cambios metabólicos en el hombre habitante en las grandes alturas. *Sangre*, 23: 817-822, 1978.
11. ARNONE, A.: X-ray diffraction study of binding of 2,3-diphosphoglycerate to human deoxyhaemoglobin. *Nature*, 237: 146-149, 1972.
12. ARNONE, A.: Mechanism of action of hemoglobin. *Annual Review of Medicine*, 25: 123-130, 1974.
13. ASTRUP, P., GARBY, L., DE VERDIER, C. H.: Displacements of the oxyhemoglobin dissociation curve. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 22: 171-176, 1968.
14. ASTRUP, P., RORTH, M., MELLEMGAARD, K., LUNDGREN, C., MULHAUSEN, R. O.: Changes of oxygen affinity of blood at low and high pressures. *Lancet*, 2: 732-733, 1968.
15. ASTRUP, J., RORTH, M.: Oxygen affinity of hemoglobin and red cell 2,3-diphosphoglycerate in hepatic cirrhosis. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 31: 311-317, 1973.
16. ARTURSON, G., GARBY, L., ROBERT, M., ZAAR, B.: Oxygen affinity of whole blood in vivo and under standard conditions in subjects with diabetes mellitus. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 34: 19-22, 1974.
17. BAIGET BASTUS, M., GIMFERRERFELIP, E.: Estandarización de un método no enzimático para el 2,3-DPG eritrocitario. *Sangre*, 20: 528, 1975.
18. BALCERZAK, S. P., BROMBERG, P. A.: Secondary polycythemia. *Seminars in Hematology*, 12: 353-382, 1975.
19. BALTZER, G., AUER, H., ARNDT, H., ENGLHARDT, A., MARTINI, G. A.: Beziehungen zwischen intrerythrocytärer Konzentration von 2,3-Diphosphoglycerat (DPG) und dem Halbsättigungswert (T50-Wert) bei Patienten mit Lebercirrhose. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin*, 78: 1353-1356, 1972.
20. BANSI, H. W., GROSCURTH, G.: Veränderungen der Sauerstoffbindungskurven des Blutes bei Stoffwechsel- und Blutkrankheiten (Anämie und Polycythämie). *Zeitschrift für Klinische Medizin*, 113: 560-575, 1930.

21. BARTLETT, G. R.: Colorimetric assay methods for free and phosphorylated glyceric acids. *Journal of Biological Chemistry*, 234: 469-471, 1959.
22. BAUER, C., RATHSCHLAG-SCHAEFER, A.-M.: The influence of aldosterone and cortisol on oxygen affinity and cation concentration of the blood. *Respiration Physiology*, 5: 360-370, 1968.
23. BAUER, C.: Signification physio-pathologique des variations de l'affinité d'hémoglobine pour l'oxygène. *Le Poumon et le Cœur*, 27: 663-672, 1971.
24. BELLINGHAM, A.J.: The red cell in adaptation to anaemic hypoxia. *Clinics in Haematology*, 3: 577-594, 1974.
25. BELLINGHAM, A. J., GRIMES, A. J.: Red cell 2,3-diphosphoglycerate. *British Journal of Haematology*, 25: 555-562, 1973.
26. BENESCH, R.: How do small molecules do great things? *New England Journal of Medicine*, 280: 1179-1180, 1969.
27. BENESCH, R., BENESCH, R. E.: The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 26: 162-167, 1967.
28. BENESCH, R., BENESCH, R. E.: Intracellular organic phosphates as regulators of oxygen release by hemoglobin. *Nature*, 221: 618-622, 1969.
29. BENESCH, R., BENESCH, R. E., BAUER, C.: Interaction of oxygen and carbon dioxide with hemoglobin at the molecular level. En "The Red Blood Cell". Ed. D. M. Surgenor. 2nd edition. Volume II. Chapter 19. pp. 825-839. Academic Press. New York 1975.
30. BENESCH, R. E., BENESCH, R.: The reaction between diphosphoglycerate and hemoglobin. *Federation Proceedings*, 29: 1101-1104, 1970.
31. BENESCH, R. E., BENESCH, R., YU, C. I.: The effect of pyridoxal phosphate on the oxygenation of hemoglobin. *Federation Proceedings*, 28: 604, 1969.
32. BENSINGER, T. A.: Prolonged maintenance of 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) in glucose-6-P-dehydrogenase (G6PD) deficient stored blood. *Clinical Research*, 24: 107, 1976.
33. BERNSTEIN, E. F., MARZEC, U. M.: Effect of wall interaction, shear stress and osmotic injury on erythrocyte adenosine triphosphate concentration, 2,3-diphosphoglycerate concentration, and the oxyhemoglobin dissociation curve. *Transactions: American Society for Artificial Internal Organs*, 20: 47-56, 1974.
34. BERTHELOT, P., WALKER, J. G., SHERLOCK, S., REID, L.: Arterial changes in the lungs in cirrhosis of the liver. *Lung spider nevi*. *New England Journal of Medicine*, 274: 291-298, 1966.
35. BEUTLER, E., WOOD, L. A.: Preservation of red cell 2,3-diphosphoglycerate in modified ACD solution and in experimental artificial storage media. *Vox Sanguinis*, 20: 403-413, 1971.
36. BEUTLER, E., WOOD, L. A.: Preservation of red cell 2,3-DPG and viability in bicarbonate-containing medium: the effect of blood-bag permeability. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 80: 723-728, 1972.
37. BEUTLER, E., PANIKER, N. V.: Correspondence to the editor. *Blood*, 39: 744-745, 1972.
38. BLOCK, A. J., CASTLE, J. R., KEITT, A. S.: Chronic oxygen therapy. Treatment of chronic obstructive pulmonary disease at sea level. *Chest*, 65: 279-288, 1974.
39. BRADA, M., ROBINSON, L., BELLINGHAM, A. J.: The mechanism and effect of methyl prednisolone sodium succinate (MPSS) on haemoglobin function. *XVII Congress of the International Society of Hematology*, Abstracts, 718. Paris, 1978.
40. BREWER, G. J.: General Red Cell Metabolism. En "The Red Blood Cell". Ed. D. M. Surgenor. 2nd edition. Volume I. Chapter 9. pp. 387-433. Academic Press. New York. 1974.
41. BREWER, G. J.: Red Cell Metabolism and Function. En "The Red Blood Cell" Ed. D. M. Surgenor. 2nd edition. Volume I. Chapter 11. pp. 473-508. Academic Press. New York. 1974.
42. BREWER, G. J.: 2,3-DPG and erythrocyte oxygen affinity. *Annual Review of Medicine*, 25: 29-38, 1974.
43. BREWER, G. J., EATON, J. W.: The role of erythrocyte intermediates in "programming" for oxygen release in the normal human and in hypoxic diseases. *Journal of Clinical Investigation*, 48: 11a, 1969.

44. BREWER, G. J., EATON, J. W.: Erythrocyte metabolism: interaction with oxygen transport. *Science*, 171: 1205-1211, 1971.
45. BROENNELE, A. M., TUNG, C. K., BUCHMAN, B., LAVER, M. B.: Oxyhemoglobin dissociation following massive transfusion in man. *Federation Proceedings*, 29: 329, 1970.
46. BUNN, H. F., BRIEHL, R. W.: The interaction of 2,3-diphosphoglycerate with various human hemoglobins. *Journal of Clinical Investigation*, 49: 1088-1095, 1970.
47. BUNN, H. F., KITCHEN, H.: Hemoglobin function in the horse: the role of 2,3-diphosphoglycerate in modifying the oxygen affinity of maternal and fetal blood. *Blood*, 42: 471-479, 1973.
48. BUNN, H. F., RANSIL, B. J., CHAO, A.: The interaction between erythrocyte organic phosphates, magnesium ion and hemoglobin. *Journal of Biological Chemistry*, 246: 5273-5279, 1971.
49. BURSAUX, E., DUBOS, C., POYART, C. F.: Affinité du sang pour l'oxygène et transfusion sanguine. *Le Poumon et le Cœur*, 27: 683-689, 1971.
50. CALDWELL, P. R. B., FRITTS, H. W. Jr., COURNAND, A.: Oxyhemoglobin dissociation curve in liver disease. *Journal of Applied Physiology*, 20: 316-320, 1965.
51. CALDWELL, P. R. B., NAGEL, R. L.: Observations on the binding of 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) to hemoglobin. XIV International Congress of Hematology, Abstracts, 337. Sao Paulo (Brazil), 1972.
52. CHANUTIN, A., CURNISH, R. R.: Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 121: 96-102, 1967.
53. CHARACHE, S., WINSLOW, R., BRIMHALL, B., KAZAZIAN, H. Jr.: Oxygen transport in hemoglobin Hope/ β^0 thalassemia. *Blood*, 48: 1001, 1976.
54. CHEMTOB, S., GIBB, W., BARD, H.: The inter-relationship of 2,3-diphosphoglycerate (DPG) and DPG mutase (mutase) during mammalian development. *Clinical Research*, 25: 677, 1977.
55. CHEMTOB, S., GIBB, W., ROBILLARD, J., ROUX, J., BARD, H.: The relationship of the activity of 2,3-diphosphoglycerate mutase and the levels of 2,3-diphosphoglycerate during the perinatal period. *Clinical Research*, 24: 653, 1976.
56. CHILLAR, R. K., DESFORGES, J. F.: Red-cell organic phosphates in patients with chronic renal failure on maintenance haemodialysis. *British Journal of Haematology*, 26: 549-556, 1974.
57. CHING, N., NEALON, T. F. Jr., GROSSI, C. E., GARDNER, W. A.: Effect of storage on 2,3-DPG (2,3-diphosphoglycerate) levels in ACD and CPD preserved human blood. XIV International Congress of Hematology, Abstracts, 338. Sao Paulo (Brazil), 1972.
58. CZERNIK, A. J., PSYCHOYOS, S., CASH, W. D.: Failure of thyroid hormones to enhance the activity of diphosphoglycerate mutase. *Endocrinology*, 95: 508-512, 1974.
59. DACIE, J. V., LEWIS, S. M., GORDON-SMITH, E. C.: Laboratory methods used in the investigation of the haemolytic anaemias. II. Hereditary haemolytic anaemias. En "Practical Haematology". Ed. J. V. Dacie, S. M. Lewis. 5th edition. Chapter 9. pp. 202-235. Churchill-Livingstone. Edinburgh, London. 1975.
60. DARLING, R. C.: Arterial oxygen saturation in cirrhosis of the liver. *Annals of Internal Medicine*, 14: 898-902, 1940.
61. DAWSON, R. B.: Hemoglobin function in stored blood: combined use of metabolic regulators and nutrients. IV. Inosine and methylene blue. XVI International Congress of Hematology, Abstracts, 84. Kyoto (Japan), 1976.
62. DEL GUERCIO, L. R. M., Mc CONN, R., LERNER, A. G., GREEN, S. H., SIEGEL, J. H.: Dynamic adaptation of the oxyhemoglobin dissociation curve to abnormal circulatory patterns in cirrhosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 170: 367-378, 1970.
63. DENIS, P., FERET, J., NOUVET, G., PASQUIS, P., STAIN, J. P., WEISANG, E., MORERE, P., LEFRANCOIS, R.: Etude de p50 et 2,3-diphosphoglycérate chez 23 bronchoemphysémateux en fonction de l'hypoxie et de la concentration d'hémoglobine. *Le Poumon et le Cœur*, 23: 183-187, 1977.
64. DICKERMAN, J. D., OSTREA, E. M. Jr., ZINKHAM, W. H.: In vivo aging of transfused erythrocytes and 2,3-diphosphoglycerate levels. *Blood*, 42: 9-15, 1973.

65. DITZEL, J.: Impaired oxygen release caused by alterations of the metabolism in the erythrocytes in diabetes. *Lancet*, 1: 721-723, 1972.
66. DITZEL, J.: Improved erythrocytic oxygen release following a dietary supplement of calcium diphosphate to diabetic and healthy children. *Diabetologia*, 10: 363, 1974.
67. DITZEL, J.: The problem of tissue oxygenation in diabetes mellitus. III. The "three-in-one concept" for the development of diabetic microangiopathy and a rational approach to its prophylaxis. *Acta Medica Scandinavica. Supplementum*, 578: 69-83, 1975.
68. DITZEL, J., ANDERSEN, H., DAUGAARD, N.: Tissue oxygenation in uncontrolled diabetes mellitus. *Lancet*, 2: 818, 1972.
69. DITZEL, J., ANDERSEN, H., DAUGAARD PETERS, N.: Increased haemoglobin A_{1c} and 2,3-diphosphoglycerate in diabetes and their effects on red-cell oxygen releasing capacity. *Lancet*, 2: 1034, 1973.
70. DITZEL, J., DAUGAARD, N. P., ANDERSEN, H.: Oxygen affinity of haemoglobin and red cell 2,3-diphosphoglycerate in childhood diabetes. *Diabetologia*, 10: 363, 1974.
71. DITZEL, J., STANDL, E.: The problem of tissue oxygenation in diabetes mellitus. I. Its relation to the early functional changes in the microcirculation of diabetic subjects. *Acta Medica Scandinavica. Supplementum*, 578: 49-58, 1975.
72. DITZEL, J., STANDL, E.: The problem of tissue oxygenation in diabetes mellitus. II. Evidence of disordered oxygen release from the erythrocytes of diabetics in various conditions of metabolic control. *Acta Medica Scandinavica. Supplementum*, 578: 59-68, 1975.
73. DUHM, J., DEUTICKE, B., GERLACH, E.: Beeinflusst Trijodthyronin den 2,3-Diphosphoglyceratgehalt von Erythrocyten? *Naturwissenschaften*, 56: 329-330, 1969.
74. DUVELLEROY, M.: Transport de l'oxygène. *Le Poumon et le Coeur*, 27: 645-653, 1971.
75. EATON, J. W., BREWER, G. J., SCHULTZ, J. S., SING, C. F.: Variation in 2,3-diphosphoglycerate and ATP levels in human erythrocytes and effects on oxygen transport. En "Red Cell Metabolism and Function". Ed. G. J. Brewer. pp. 21-38. Plenum Press. New York. 1970.
76. EATON, J. W., BREWER, G. J.: Pentose Phosphate Metabolism. En "The Red Blood Cell". Ed. D. M. Sengnor. 2nd edition. Volume I. Chapter 10. pp. 435-471. Academic Press. New York. 1974.
77. EEGRIWE, E.: *Z. anal. Chem.* 95: 323, 1923. Citado por Bartlett (21).
78. EISENBERG, S.: Blood volume in patients with Laennec's cirrhosis of the liver as determined by radioactive Chromium-tagged red cells. *American Journal of Medicine*, 20: 189-195, 1956.
79. ERICSON, A., DE VERDIER, C. H.: A modified method for the determination of 2,3-diphosphoglycerate in erythrocytes. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 29: 85-90, 1972.
80. ESPINOS PEREZ, D., VILLEGAS, A., ESCRIBA, A., DIAZ MEDIAVILLA, J., ABOIN, J.: Valor de 2,3-DPG intraeritrocitario en anemias refractarias. *Sangre*, 22: 92, 1977.
81. FALKO, J. M., COHEN, J. R.: Erythrocytosis and Hypothyroidism. *Annals of Internal Medicine*, 84: 446-447, 1976.
82. FARBER, M. O., DALY, R. S., STRAWBRIDGE, R. A., MANFREDI, F.: Steroids, Hypoxemia, and oxygen transport. *Chest*, 75: 451-455, 1979.
83. FINCH, C. A., LENFANT, C.: Oxygen transport in man. *New England Journal of Medicine*, 286: 407-415, 1972.
84. FLENLEY, D. C., FAIRWEATHER, L. J., COOKE, N. J., KIRBY, B. J.: Changes in haemoglobin binding curve and oxygen transport in chronic hypoxic lung disease. *British Medical Journal*, 1: 602-604, 1975.
85. FLUCKIGER, M.: Vorkommen von trommelschägel-förmigen Fingerendphalangen ohne chronische Veränderungen an den Lungen oder am Herzen. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 34: 1457-1458, 1884.
86. FRITTS, H. W. Jr., HARDEWIG, A., ROCHESTER, D. F., DURAND, J., COURNAND, A.: Estimation of pulmonary arteriovenous shunt-flow using intravenous injections of T-1824 Dye and Kr-85. *Journal of Clinical Investigation*, 39: 1841-1850, 1960.
87. GAHLENBECK, H., BARTELS, H.: Veränderungen der Sauerstoffbindungskurven des Blutes bei Hyper-

- thyreosen und nach Gabe von Trijodthyronin bei Gesunden und bei Ratten. *Klinische Wochenschrift*, 46: 547-548, 1968.
88. GARBY, L., DE VERDIER, C. H.: Affinity of human hemoglobin A to 2,3-diphosphoglycerate. Effect of hemoglobin concentration and of pH. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 27: 345-350, 1971.
 89. GARCIA BARRENO, P.: Niveles de ácido 2,3-difosfoglicérico en sangre de pacientes en estado de shock endotóxico. *Cirugía Española*, 28: 135-142, 1974.
 90. GARCIA BARRENO, P.: Acción de los corticosteroides sobre la función del eritrocito en pacientes en shock endotóxico. Resultados "in vitro". *Revista Clínica Española*, 134: 113-118, 1974.
 91. GARCIA BARRENO, P.: Resultados de la administración de dosis masivas de corticosteroides a pacientes en estado de shock endotóxico. *Revista Clínica Española*, 134: 335-341, 1974.
 92. GARCIA BARRENO, P., BALIBREA CANTERO, J. L.: Bases teóricas del tratamiento del estado endotóxico. *Medicina Intensiva*, 3: 1-8, 1979.
 93. GARCIA BARRENO, P., GUERRA ALONSO, L.: Alteración de la función de la hemoglobina en pacientes en shock endotóxico. *Revista Clínica Española*, 134: 213-220, 1974.
 94. GARCIA CARMONA, M. T.: Transporte de oxígeno. *Archivos de Bronconeumología*, 15: 187-195, 1979.
 95. GARCIA-MARCILLA, A., VILLEGAS, A., TOLEDO, T., ABOIN, J., DIAZ MEDIIVILLA, J.: Valor del 2,3-DPG intraeritrocitario en anemias y poliglobulias. *Sangre*, 20: 528, 1975.
 96. GASALLA CHACON, R., ROMERO GARCIA, C., MARTIN VILLAR, J., SANCHEZ GONZALEZ, M. C.: Energética del eritrocito conservado a 4° con ACD, ACD-Adenina y CPD. *Sangre*, 19: 30-40, 1974.
 97. GENTIL BALDRICH, A., TRUJILLO RODRIGUEZ, F., RODRIGUEZ PORTILLO, M., RUBERRIZ DE TORRES, R., RUBIO RUBIO, J. M., AZNAR REIG, A.: Estudio de la lactacidemia y de la piruvicemia en las hepatopatías difusas. *Revista Clínica Española*, 156: 345-347, 1980.
 98. GEORG, J., MELLEMGAAARD, K., TYGSTRUP, N., WINKLER, K.: Venoarterial shunts in cirrhosis of the liver. *Lancet*, 1: 852-854, 1960.
 99. GINESTAL GOMEZ, R. J.: La hemoglobina y el transporte de oxígeno. *Medicina Intensiva*, 2: 95-109, 1978.
 100. GORE, W. L.: Métodos estadísticos para experimentación química y tecnológica. Editorial Tecnos, S. A., Madrid.
 101. GREENWALD, I.: A new type of phosphoric acid compound isolated from blood, with some remarks on the effect of substitution on the rotation of L-glyceric acid. *Journal of Biological Chemistry*, 63: 339-349, 1925. Citado por Bellingham y Grimes (25).
 102. GROSZ, H. J., FARMER, B. B.: Reduction-oxidation potential of blood determined by oxygen releasing factor in thyroid disorders. *Nature*, 222: 875-876, 1969.
 103. HAMASAKI, N., MATSUDA, Y., HAMANO, S., HARA, T., MINAKAMI, S.: Respiratory insufficiency and red cell 2,3-diphosphoglycerate. The correlation of 2,3-diphosphoglycerate with arterial pH, oxygen tension and hematocrit value. *Clinica Chimica Acta*, 50: 385-391, 1974.
 104. HARRIS, J. W., KELLERMEYER, R. W.: *The Red Cell. Production, metabolism, destruction: normal and abnormal.* Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts, 1972.
 105. HEBBEL, R. P., EATON, J. W., MODLER, S., JACOB, H. S.: Extreme but asymptomatic carboxyhemoglobinemia and chronic lung disease. *Journal of the American Medical Association*, 239: 2584-2586, 1978.
 106. HEDELIN, H., LUNDBERG, P. A.: A simple automated fluorometric method for the determination of 2,3-diphosphoglycerate in blood. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 32: 35-39, 1973.
 107. HEINEMANN, H. O.: Respiration and circulation in patients with portal cirrhosis of the liver. *Circulation*, 22: 154-159, 1960.
 108. HEINEMANN, H. O., EMIRGIL, C., MIJNSSEN, J. P.: Hyperventilation and arterial hypoxemia in cirrhosis of the liver. *American Journal of Medicine*, 28: 239-246, 1960.
 109. HEINIG, R. E., CLARKE, E. F., WATERHOUSE, C.: Lactic acidosis and liver disease. *Archives of Internal Medicine*, 139: 1229-1232, 1979.

110. HELLERSTEIN, S., GRADY, H., GRISOLIA, S.: Normal values of red cell 2,3-diphosphoglycerate by a simplified automated method. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 76: 171-174, 1970.
111. HJELM, M., WADMAN, B.: Erythrocyte-DPG and creatine in polycythemia. *New England Journal of Medicine*, 287: 45-46, 1972.
112. HJELM, M., WADMAN, B.: Clinical symptoms, haemoglobin concentration and erythrocyte biochemistry. A study in women with iron deficiency anaemia. *Clinics in Haematology*, 3: 689-703, 1974.
113. HUEHNS, E. R., BELLINGHAM, A. J.: Diseases of function and stability of haemoglobin. *British Journal of Haematology*, 17: 1-10, 1969.
114. HURT, G. A., CHANUTIN, A.: Organic phosphate compounds of erythrocytes from individuals with uremia. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 64: 675-684, 1964.
115. HURT, G. A., CHANUTIN, A.: Organic phosphate compounds of erythrocytes from individuals with cirrhosis of the liver. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 118: 167-169, 1965.
116. JACOB, H. S., AMSDEN, T.: Acute hemolytic anemia with rigid cells in hypophosphatemia. *New England Journal of Medicine*, 285: 1446-1450, 1971.
117. JOHNSON, G. Jr., PROCTOR, H. J., PARKER, J. C.: Erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate response to operation in patients with cirrhosis. *Journal of Surgical Research*, 15: 371-374, 1973.
118. KEITT, A. S., HINKES, C., BLOCK, J.: Comparison of factors regulating red cell 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) in acute and chronic hypoxemia. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 84: 275-280, 1974.
119. KANTER, Y., BESSMAN, A. N.: Effect of phenformin (DBI) on inorganic phosphate (PI), adenosine triphosphate (ATP), 2,3-diphosphoglycerate (DPG) and lactate levels in diabetics' red blood cells (RBC). *Clinical Research*, 24: 118, 1976.
120. KANTER, Y., GERSON, J. R., BESSMAN, A. N.: 2,3-diphosphoglycerate, nucleotide phosphate, and organic and inorganic phosphate levels during the early phases of diabetic Ketoacidosis. *Diabetes*, 26: 429-433, 1977.
121. KARDEL, T., RASMUSSEN, S. N.: Blood gases and acid-base disturbances of arterial blood in chronic liver disease. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 31: 307-309, 1973.
122. KARETZKY, M. S., MITHOEFER, J. C.: The cause of hyperventilation and arterial hypoxia in patients with cirrhosis of the liver. *American Journal of the Medical Sciences*, 254: 797-804, 1967.
123. KEITT, A. S.: Reduced nicotinamide adenine dinucleotide-linked analysis of 2,3-diphosphoglyceric acid: spectrophotometric and fluorometric procedures. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 77: 470-475, 1971.
124. KEYS, A., SNELL, A. M.: Respiratory properties of the arterial blood in normal man and in patients with disease of the liver: position of the oxygen dissociation curve. *Journal of Clinical Investigation*, 17: 59-67, 1938.
125. KLEEBERG, U. R., HEIMPEL, H.: Die Bedeutung des 2,3-Diphosphoglycerats für die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 96: 1570-1574, 1971.
126. KONDO, T., TANIGUCHI, N., ISHIKAWA, N., IDE, H., TAKAKUWA, E., MURAO, M.: Effect of thyroid hormone on the levels of erythrocyte carbonic anhydrase isozymes and 2,3-diphosphoglycerate in rabbits. *Metabolism*, 27: 599-606, 1978.
127. KONTOS, H. A., SHAPIRO, W., MAUCK, H. P., PATTERSON, J. L.: General and regional circulatory alterations in cirrhosis of the liver. *American Journal of Medicine*, 37: 526-535, 1964.
128. KREISBERG, R. A.: Lactate homeostasis and lactic acidosis. *Annals of Internal Medicine*, 92: 227-237, 1980.
129. LAM, Y. F., LIN, A. K. L. C., HO, C.: A phosphorus-31 nuclear magnetic resonance investigation of intracellular environment in human normal and sickle cell blood. *Blood*, 54: 196-209, 1979.
130. LAMOTTE, M.: *Estadística Biológica. Principios Fundamentales*. Toray-Masson, S. A., Barcelona. 5.^a edición. 1976.

131. LAPPIN, T. R., ELDER, G. E., COULTER, C. D.: Automated colorimetric determination of 2,3-diphosphoglycerate. *Clinica Chimica Acta*, 44: 349-356, 1973.
132. LEDFORD, M. E., MOORE, G. L., BENSINGER, T. A.: Comparison of two 2,3-diphosphoglycerate assays. *Clinical Chemistry*, 24: 517-518, 1978.
133. LENFANT, C., TORRANCE, J. D., WOODSON, R. D., JACOBS, P., FINCH, C. A.: Role of organic phosphates in the adaptation of man to hypoxia. *Federation Proceedings*, 29: 1115-1117, 1970.
134. LEROUX, J. P., NAJMAN, A.: Biochimie et physiologie du 2,3-diphosphoglycérate érythrocytaire. *Annales de Biologie Clinique*, 29: 279-295, 1971.
135. LICHTMAN, M. A., MILLER, D. R.: Erythrocyte glycolysis, 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate concentration in uremic subjects: Relationship to extracellular phosphate concentration. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 76: 267-279, 1970.
136. LICHTMAN, M. A., MURPHY, M. S., BYER, B. J., FREEMAN, R. B.: Hemoglobin affinity for oxygen in chronic renal disease: The effect of hemodialysis. *Blood*, 43: 417-424, 1974.
137. LICHTMAN, M. A., MILLER, D. R., COHEN, J., WATERHOUSE, C.: Reduced red cell glycolysis, 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate concentration, and increased hemoglobin-oxygen affinity caused by hypophosphatemia. *Annals of Internal Medicine*, 74: 562-568, 1971.
138. LICHTMAN, M. A., MILLER, D. R., FREEMAN, R. B.: "Mountain sickness" at low altitude due to hypophosphatemia. *New England Journal of Medicine*, 281: 567, 1969.
139. MANSELL, M., GRIMES, A. J.: Red and white cell abnormalities in chronic renal failure. *British Journal of Haematology*, 42: 169-174, 1979.
140. MARTINI, G. A.: Extrahepatic manifestations of cirrhosis. *Clinics in Gastroenterology*, 4: 439-460, 1975.
141. MARTINI, G. A., BALTZER, G., ARNDT, H.: Some aspects of circulatory disturbances in cirrhosis of the liver. En "Progress in Liver Diseases". Ed. H. Popper & F. Schaffner. Volume 4, pp. 231-250. Grune-Stratton. New York, 1972.
142. Mc CONN, R.: 2,3-DPG-what role in septic shock? En "Shock in low and high-flow states". Ed. B. K. Forscher, R. C. Lillehei, S. S. Stubbs. pp. 28-41. Excerpta Medica. Amsterdam, 1972.
143. MELDON, J. H., GARBY, L.: The blood oxygen transport system. *Acta Medica Scandinavica. Supplementum*, 578: 19-29, 1975.
144. MELLENGAARD, K., WINKLER, K., TYGSTRUP, N., GEORG, J.: Sources of venoarterial admixture in portal hypertension. *Journal of Clinical Investigation*, 42: 1399-1405, 1963.
145. MEYER, M., MARTI, H. R.: 2,3-Diphosphoglycerat und Adenosintri-phosphat der Erythrozyten bei Anämie. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 100: 1967-1968, 1970.
146. MICHAL, G.: D-glycerate-2,3-diphosphate. En "Methods of enzymatic analysis". Ed. H. U. Bergmeyer. 2nd edition. Volume 3, pp. 1433-1438. Academic Press. New York, 1974.
147. MILLER, L. D., SUGARMAN, H. J., MILLER, W. W., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M., DIACO, J. F., GOTTLIEB, A. J., OSKI, F. A.: Increased peripheral oxygen delivery in thyrotoxicosis: role of red cell 2,3-diphosphoglycerate. *Annals of Surgery*, 172: 1051-1058, 1970.
148. MILLER, M. E., ZAROULIS, C. G., VALERI, C. R., STOHLMAN, F. Jr.: Oxygen transport by the red cell: effects of chronic hemodialysis. *Blood*, 43: 49-56, 1974.
149. MILLER, W. W., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M., MILLER, L., OSKI, F. A.: Oxygen releasing factor in hyperthyroidism. *Journal of the American Medical Association*, 211: 1824-1826, 1970.
150. MITCHELL, T. R., PEGRUM, G. D.: The oxygen affinity of haemoglobin in chronic renal failure. *British Journal of Haematology*, 21: 463-472, 1971.
151. MONTALVO, A., SILVA, G., GARCIA CONDE, J.: Micrométodo para la determinación cuantitativa de 2,3-DPG. Variaciones del contenido de DPG en sangre conservada con distintos anticoagulantes. *Sangre*, 22: 119, 1977.
152. MONTI, M.: Red cell 2,3-diphosphoglycerate in patients with hyperthyroidism before and after treatment. *Acta Medica Scandinavica*, 196: 263-266, 1974.
153. MOULD, R. F.: Introducción a la estadística médica. Ediciones Universidad de Navarra, S. A., Pamplona, 1979.

154. MUIRHEAD, H., COX, J. M., MAZZARELLA, L., PERUTZ, M. F.: Structure and function of hemoglobin. III. A three-dimensional Fourier synthesis of human deoxyhaemoglobin at 5.5 Å resolution. *Journal of Molecular Biology*, 28: 117-150, 1967.
155. MULHAUSEN, R., EICHENHOLZ, A., BLUMENTALS, A.: Acid-base disturbances in patients with cirrhosis of the liver. *Medicine*, 46: 185-189, 1967.
156. MURRAY, J. F., DAWSON, A. M., SHERLOCK, S.: Circulatory changes in chronic liver disease. *American Journal of Medicine*, 24: 358-367, 1958.
157. NAKAMURA, T., NAKAMURA, S., TAZAWA, T., ABE, S., AIKAWA, T., TOKITA, K.: Measurement of blood flow through portopulmonary anastomosis in portal hypertension. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 65: 114-121, 1965.
158. NINNESS, R., KIMBER, R. W., Mc DONALD, J. W. D.: Erythrocyte 2,3-DPG, ATP and oxygen affinity in hemodialysis patients. *Canadian Medical Association Journal*, 111: 661-665, 1974.
159. NYGAARD, S. F., RORTH, M.: An enzymatic assay of 2,3-diphosphoglycerate in blood. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 24: 399-403, 1969.
160. OESEBURG, B., LANDSMAN, M. L. J., MOOK, G. A., ZIJLSTRA, W. G.: Direct recording of oxyhaemoglobin dissociation curve in vivo. *Nature*, 237: 149-150, 1972.
161. OPALINSKI, A., BEUTLER, E.: Creatine, 2,3-diphosphoglycerate and anemia. *New England Journal of Medicine*, 285: 483-486, 1971.
162. OSKI, F. A., GOTTLIEB, A. J., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M., MILLER, W. W.: Red-cell 2,3-diphosphoglycerate levels in subjects with chronic hypoxemia. *New England Journal of Medicine*, 280: 1165-1166, 1969.
163. OSKI, F. A., GOTTLIEB, A. J., MILLER, L.: Influencia de la herencia y el medio sobre la función de transporte de oxígeno por los glóbulos rojos. *Clínicas Médicas de Norteamérica*, 54: 731-743, 1970.
164. OSKI, F. A., SUGERMAN, H. J., MILLER, L. D.: Experimentally induced alterations in the affinity of hemoglobin for oxygen. I. In vitro restoration of erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate and its relationship to erythrocyte purine nucleoside phosphorylase activity in a variety of species. *Blood*, 39: 522-524, 1972.
165. OSKI, F., SUGERMAN, H., POLLOCK, T., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M.: Experimentally induced in vivo alterations in the affinity of hemoglobin for oxygen. *Blood*, 38: 794, 1971.
166. PALEK, J., MIRCEVOVA, L., BRABEC, V.: 2,3-diphosphoglycerate metabolism in hereditary spherocytosis. *British Journal of Haematology*, 17: 59-72, 1969.
167. PALENCIANO, L., RODRIGUEZ, M. C., PAYO, F., DE VEGA, A., CORRALES, M., OCIO, G.: Afinidad de la hemoglobina para el oxígeno en la hipoxemia de los obstructivos. *Archivos de Bronconeumología*, 14: 149-153, 1978.
168. PEARSON, H. A.: O₂ dissociation and RBC 2,3-DPG in thalassemia. *Blood*, 46: 1027, 1975.
169. PEARSON, H. A., MOTOYAMA, E., GENEL, M., KRAMER, M., ZIGAS, C. J.: Intraerythrocytic adaptation (2,3-DPG, p50) in thalassemia minor. *Blood*, 49: 463-465, 1977.
170. PERUTZ, M. F.: Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin. *Nature*, 228: 726-734, 1970.
171. PERUTZ, M. F.: The Bohr effect and combination with organic phosphates. *Nature*, 228: 734-739, 1970.
172. PETERSON, L. L.: Red-cell diphosphoglycerate mutase. Immunochemical studies in vertebrate red cells, including a human variant lacking 2,3-DPG. *Blood*, 52: 953-958, 1978.
173. POYART, C. F., BURSAUX, E., FREMINET, A.: Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine et glycolyse érythrocytaire. *Le Poumon et le Cœur*, 27: 655-662, 1971.
174. RAICH, P. C., RODRIGUEZ, J. M., DESAI, J. N., SHAHIDI, N. T.: Effect of hemodialysis on erythrocyte 2,3-DPG in patients with uremia. *American Journal of the Medical Sciences*, 265: 147-151, 1973.
175. RAJAN, K. S., LEVINSON, R., LEEVY, C. M.: Abnormalities in RBC 2,3-DPG in hepatic encephalopathy. *Gastroenterology*, 64: 191, 1973.
176. RAPOPORT, S.: Über die Bestimmung der Glycerinsäure in freier und veresterter Form. *Biochemische Zeitschrift*, 289: 406, 1937. Citado por Bartlett (21) y por Teunissen et al. (231).

177. RAPOPORT, S., GUEST, G. M.: The decomposition of diphosphoglycerate in acidified blood: its relationship to reactions of the glycolytic cycle. *Journal of Biological Chemistry*, 129: 781, 1939. Citado por Thomas et al. (233).
178. RAPOPORT, S., GUEST, G. M.: Distribution of acid-soluble phosphorus in the blood cells of various vertebrates. *Journal of Biological Chemistry*, 138: 269, 1941. Citado por Leroux y Najman (134).
179. RAPOPORT, S., LUBERING, J.: The formation of 2,3-diphosphoglycerate in rabbit erythrocytes: the existence of a diphosphoglycerate mutase. *Journal of Biological Chemistry*, 183: 507-516, 1950.
180. RAPOPORT, S., LUBERING, J.: Glycerate-2,3-diphosphatase. *Journal of Biological Chemistry*, 189: 683-694, 1951.
181. RECORD, C. O., ILES, R. A., COHEN, R. D., WILLIAMS, R.: Acid-base and metabolic disturbances in fulminant hepatic failure. *Gut*, 16: 144-149, 1975.
182. RIEGEL, K., VERSMOLD, H., WINDTHORST, H., HORN, K.: Thyroxine and red cell 2,3-diphosphoglycerate in the newborn period. *Klinische Wochenschrift*, 51: 138-139, 1973.
183. RODMAN, T., HURWITZ, J. K., PASTOR, B. H., CLOSE, H. P.: Cyanosis, clubbing and arterial oxygen unsaturation associated with Laennec's cirrhosis. *American Journal of Medical Sciences*, 238: 534-541, 1959.
184. RODMAN, T., SOBEL, M., CLOSE, H. P.: Arterial oxygen unsaturation and the ventilation-perfusion defect of Laennec's cirrhosis. *New England Journal of Medicine*, 263: 73-77, 1960.
185. RODRIGUEZ, J. M., SHAHIDI, N. T.: Erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate in adaptative red-cell-volume deficiency. *New England Journal of Medicine*, 285: 479-482, 1971.
186. ROMERO, C., GASALLA, R., FERNANDEZ DE VILLALTA, M. J., YANGUAS, J. J., MARTIN VILLAR, J.: Estudios de conservación de la sangre en CPD con adición de adenina a débil concentración. *Sangre*, 22: 461-467, 1977.
187. ROMERO, C., GASALLA, R., FERNANDEZ DE VILLALTA, M. J., MARTIN VILLAR, J.: Restauración "in vitro" de la sangre conservada en CPD y CPD-adenina mediante adición de inosina y pirúvico-fosfato. *Sangre*, 23: 298-302, 1978.
188. ROMERO, C., GASALLA, R., PEREZ CARMENA, J. L., RUBIO DE VILLANUEVA, J. L., RUBIO GARCIA, J., MARTIN VILLAR, J.: Hemoglobinopatía S en un homocigote español. *Sangre*, 22: 76-87, 1977.
189. ROMERO GARCIA, C., GASALLA CHACON, R., MARTIN VILLAR, J.: Afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y nivel de 2,3-DPG en la sangre conservada a 4° C en ACD y CPD. *Sangre*, 22: 120, 1977.
190. RORTH, M.: Hypoxia, red cell oxygen affinity and erythropoietin production. *Clinics in Haematology*, 3: 595-607, 1974.
191. RORTH, M., NYGAARD, S. F., PARVING, H. H.: Effect of exposure to simulated high altitude on human red cell phosphates and oxygen affinity of hemoglobin. Influence of exercise. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 29: 329-333, 1972.
192. RORTH, M., NYGAARD, S. F., PARVING, H. H., HANSEN, V., KALSIG, T.: Effect of 2 hours' exposure to simulated high altitude (4500 m) on human red cell metabolism. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 29: 321-327, 1972.
193. RORTH, M., PARVING, H. H., MUNKGAARD, S.: Red-cell oxygen affinity and 2,3-diphosphoglycerate in diabetes. *Lancet*, 1: 1179, 1972.
194. ROSA, R., NAJEAN, Y., PREHU, M., BEUZARD, Y., ROSA, J.: Total deficiency of red cell diphosphoglycerate mutase (DPGM). *Blood* 50 (Supplementum 1): 84, 1977.
195. ROSE, Z. B.: Enzymes controlling 2,3-diphosphoglycerate in human erythrocytes. *Federation Proceedings*, 29: 1105-1111, 1970.
196. ROSS, K., KRAUS, A. P.: Erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate levels during sickle cell anemia crisis. XIV International Congress of Hematology, Abstracts, 340. Sao Paulo (Brazil), 1972.
197. ROTH, E. F. Jr., NAGEL, R. L., BOOKCHIN, B. M., LANDAU, L. C.: K⁺ leak in sickle cells: effect of pH and 2,3-diphosphoglycerate. *Blood*, 48: 962, 1976.
198. RYDELL, R., HOFFBAUER, F. W.: Multiple pulmonary arteriovenous fistulas in juvenil cirrhosis. *American Journal of Medicine*, 21: 450-460, 1956.

199. SAGONE, A. L. Jr., LAWRENCE, T., BALCERZAK, S. P.: Effect of smoking on tissue oxygen supply. *Blood*, 41: 845-851, 1973.
200. SANCHEZ VARELA, J. M.: Estudio del 2,3-DPG en sujetos normales y en algunas situaciones patológicas. Tesina de Licenciatura. Universidad de Santiago. 1973.
201. SANCHEZ VARELA, J. M.: Estudio del 2,3-difosfoglicerato intraeritrocítico: su determinación por métodos bioquímicos en diversas situaciones clínicas. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago. 1975.
202. SANCHEZ VARELA, J. M., ESPINOS, D., DIEZ MEDIAVILLA, J., MARTINEZ, R.: El 2,3-DPG en la compensación de la anemia crónica. *Medicina Clínica*, 65: 452-457, 1975.
203. SARKAR, S. R., SINGH, L. R., BANERJI, R., CHAUDHURI, B. N.: Blood 2,3-diphosphoglycerate (DPG) and potassium homeostasis in thyroid disorders. *Current Science*, 48: 880-881, 1979.
204. SCHUSSLER, G. C., RANNEY, H. M.: Thyroid hormones and the oxygen affinity of hemoglobin. *Annals of Internal Medicine*, 74: 632-633, 1971.
205. SCHATZL, A., SCHWEIGART, U., BOTTERMANN, P.: Der Einfluss von Thyroxin auf den 2,3-DPG-Gehalt der Erythrozyten in vivo und in vitro. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin*, 82: 1863-1865, 1976.
206. SCHROTER, W., WINTER, P.: Der 2,3-Diphosphoglyceratstoffwechsel in den Erythrocyten Neugeborener und Erwachsener. *Klinische Wochenschrift*, 45: 225-261, 1967.
207. SCHWEIGART, U., SCHATZL, A., BOTTERMANN, P.: Der Einfluss von Thyroxin auf den 2,3-DPG-Gehalt der Erythrozyten in vivo und in vitro. *Acta Biologica et Medica Germanica*, 36: 651-656, 1977.
208. SEKIGUCHI, W., WADA, T., NINOMIYA, K., YAMAMURA, H., TOHYAMA, H.: Experimental studies on the role and fate of 2,3-DPG in recipients. XVII Congress of the International Society of Hematology, Abstracts, 734. Paris, 1978.
209. SEVERINGHAUS, J. W.: Oxyhemoglobin dissociation curve correction for temperature and pH variation in human blood. *Journal of Applied Physiology*, 12: 485-486, 1958.
210. SEVERINGHAUS, J. W.: Blood gas calculator. *Journal of Applied Physiology*, 21: 1108-1116, 1966.
211. SHAPPELL, S. D., LENFANT, C. J. M.: Physiological role of the oxyhemoglobin dissociation curve. En "The Red Blood Cell". Ed. D. M. Surgenor. 2nd edition. Volume II. Chapter 20. pp. 841-871. Academic Press. New York. 1975.
212. SIGGAARD-ANDERSEN, O.: Oxygen-linked hydrogen ion binding of human hemoglobin. Effects of carbon dioxide and 2,3-diphosphoglycerate. I. Studies on erythrolysate. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 27: 351-360, 1971.
213. SIGGAARD-ANDERSEN, O., RORTH, M., NORGAARD-PEDERSEN, B., SPARRE-ANDERSEN, O., JOHANSEN, E.: Oxygen-linked hydrogen ion binding of human hemoglobin. Effects of carbon dioxide and 2,3-diphosphoglycerate. IV. Thermodynamical relationship between the variables. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 29: 303-320, 1972.
214. SIGGAARD-ANDERSEN, O., SALLING, N.: Oxygen-linked hydrogen ion binding of human hemoglobin. Effects of carbon dioxide and 2,3-diphosphoglycerate. II. Studies on whole blood. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 27: 361-366, 1971.
215. SIGGAARD-ANDERSEN, O., SALLING, N., NORGAARD-PEDERSEN, B., RORTH, M.: Oxygen-linked hydrogen ion binding of human hemoglobin. Effects of carbon dioxide and 2,3-diphosphoglycerate. III. Comparison of the Bohr effect and the Haldane effect. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 29: 185-193, 1972.
216. SILBERGLEIT, A., PFIFFNER, J. J.: The role of hypoxemia in finger clubbing. *Federation Proceedings*, 29: 329, 1970.
217. SLAWSKY, P., DESFORGES, J. F.: Erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate in iron deficiency. *Archives of Internal Medicine*, 129: 914-917, 1972.
218. SNELL, R. E., LUCHSINGER, P. C.: The relation of arterial hypoxemia to the hyperventilation of chronic liver disease. *American Journal of Medical Sciences*, 245: 289-292, 1963.
219. SNYDER, L. M., NERI, L. L., CHUNG, S. K., MOLINARI, P. F., REDDY, W. F.: The variation of glucose

- metabolism in human erythrocytes in the presence of L-Thyroxine. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 138: 1-3, 1971.
220. SNYDER, L. M., REDDY, W. J.: The effect of 3-5-3'-triiodothyronine on red cell 2,3-diphosphoglyceric acid. *Clinical Research*, 18: 416, 1970.
 221. SNYDER, L. M., REDDY, W. J.: Mechanism of action of thyroid hormones on erythrocyte 2,3-diphosphoglyceric acid synthesis. *Journal of Clinical Investigation*, 49: 1993-1998, 1970.
 222. SNYDER, L. M., REDDY, W. J.: Thyroid hormone control of erythrocyte 2,3-diphosphoglyceric acid concentrations. *Science*, 169: 879-880, 1970.
 223. SPAGNOLO, S. V.: Cyanosis of cirrhosis. *Medical Clinics of North America*, 59: 983-987, 1975.
 224. SPRINGER, R. R., CLARK, D. K., LEA, A. S., SOLIS, R. T.: Effects of changes in arterial carbon dioxide tension on oxygen consumption during cardiopulmonary by-pass. *Chest*, 75: 549-554, 1979.
 225. STAMATOYANNOPOULOS, G., BELLINGHAM, A. J., LENFANT, C., FINCH, C. A.: Abnormal hemoglobins with high and low oxygen affinity. *Annual Review of Medicine*, 22: 221-234, 1971.
 226. STANLEY, N. N., WOODGATE, D. J.: The circulation, the lung, and finger clubbing in hepatic cirrhosis. *British Heart Journal*, 33: 469-472, 1971.
 227. STEIN, H., STEIN, S.: Digital clubbing in cirrhosis of the liver. *Lancet*, 2: 999-1000, 1961.
 228. SUGERMAN, H. J., POLLOCK, T. W., ROSATO, E. F., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M., MILLER, L. D., OSKI, F. A.: Experimentally induced alterations in affinity of hemoglobin for oxygen. II. In vivo effect of inosine, pyruvate, and phosphate on oxygen-hemoglobin affinity in Rhesus-Monkey. *Blood*, 39: 525-529, 1972.
 229. TARUI, S., KONO, N., KUWAJIMA, M.: Interrelation between phosphofructokinase activity and 2,3-diphosphoglycerate level in erythrocytes: studies on hereditary phosphofructokinase deficiency and diabetic ketoacidosis. XVI International Congress of Hematology, Abstracts, 89. Kyoto (Japan), 1976.
 230. TARUI, S., KONO, N., UYEDA, K.: Purification and properties of rabbit erythrocyte phosphofructokinase. *Journal of Biological Chemistry*, 247: 1138-1145, 1972.
 231. TEUNISSEN, A. J., DE LEEUW, R. J. M., BOINK, A. B. T. J., HAMELINK, M. L., MAAS, A. H. J.: Comparison of five methods for determination of 2,3-diphosphoglycerate in blood. *Clinical Chemistry*, 20: 649-659, 1974.
 232. THOMAS, H. M., LEFRAK, S. S., FRITTS, H. W. Jr.: Blood oxygen affinity and acid-base state in patients with alcoholic liver disease and in normals. *Federation Proceedings*, 29: 329, 1970.
 233. THOMAS, H. M., LEFRAK, S. S., IRWIN, R. S., FRITTS, H. W. Jr., CALDWELL, P. R. B.: The oxyhemoglobin dissociation curve in health and disease. Role of 2,3-diphosphoglycerate. *American Journal of Medicine*, 57: 331-348, 1974.
 234. TORRANCE, J. D.: Diphosphoglycerate mutase assay: the effect of pyruvate, lactate dehydrogenase and thyroid hormone on the assay. *Clinica Chimica Acta*, 50: 103-109, 1974.
 235. TOWNE, J. C., RODWELL, V. W., GRISOLIA, S.: The microestimation, distribution, and biosynthesis of 2,3-diphosphoglyceric acid. *Journal of Biological Chemistry*, 226: 777-788, 1957.
 236. TRAVIS, S. F., MARTINEZ, J., GARVIN, J. Jr.: Study of a Kindred with red-cell 2,3-diphosphoglyceromutase (DPGM) deficiency and compensated hemolysis. *Blood*, 48: 993, 1976.
 237. TRAVIS, S. F., MARTINEZ, J., GARVIN, J. Jr., ATWATER, J., GILLMER, P.: Study of a kindred with partial deficiency of red-cell 2,3-diphosphoglyceratemutase (2,3-DPGM) and compensated hemolysis. *Blood*, 51: 1107-1116, 1978.
 238. TYOR, M. P., SIEKER, H. O.: Biochemical, blood gas and peripheral circulatory alterations in hepatic coma. *American Journal of Medicine*, 27: 50-59, 1959.
 239. TYUMA, I., SHIMIZU, K.: Effect of organic phosphates on the difference in oxygen affinity between fetal and adult human hemoglobin. *Federation Proceedings*, 29: 1112-1114, 1970.
 240. VALERI, C. R.: Oxygen transport function of preserved red cells. *Clinics in Haematology*, 3: 649-688, 1974.
 241. VALERI, C. R.: Liquid and Freeze Preservation of Human Red Blood Cells. En "The Red Blood Cell". Ed. D. M. Surgenor. 2nd edition. Volume I. Chapter 12. pp. 511-574. Academic Press. New York. 1974.

242. VALERI, C. R.: Drugs, hormones, and the Red Cell. En "The Red Blood Cell". Ed. D. M. Surgenor. 2nd edition. Volume II. Chapter 31. pp. 1303-1338. Academic Press. New York. 1975.
243. VALERI, C. R., COLLINS, F. B.: The physiologic effect of transfusing preserved red cells with low 2,3-diphosphoglycerate and high affinity for oxygen. *Vox Sanguinis*, 20: 397-403, 1971.
244. VALERI, C. R., FORTIER, N. L.: Red-cell 2,3-diphosphoglycerate and creatine levels in patients with red-cell mass deficits or with cardiopulmonary insufficiency. *New England Journal of Medicine*, 281: 1452-1455, 1969.
245. VALLET, B., CALLIS, A., COLLET, H., ARNAVIELHE-BONY, M., MAGNAN DE BORNIER, B.: Etude comparative du 2,3-diphosphoglycérate érythrocytaire chez l'homme normal ou hyperthyroïdien. *Comptes Rendus des Seances de la Societe de Biologie et de ses filiales*. 166: 1750-1752, 1972.
246. VANAMEE, P., POPPELL, J. W., GLICKSMAN, A. S., RANDALL, H. T., ROBERTS, K. E.: Respiratory alkalosis in hepatic coma. *Archives of Internal Medicine*, 97: 762-767, 1956.
247. VERSMOLD, H., BRAUSER, B., RIEGEL, K.: 2,3-diphosphoglycerate and tissue oxygen supply: spectrophotometric registration of cytochrome a oxidation in the intact organ as indicator of improved intracellular oxygenation. XIV International Congress of Hematology, Abstracts, 340. Brazil, 1972.
248. VERSMOLD, H., HORN, K., WINDTHORST, H., RIEGEL, K. P.: The rapid postnatal increase of red cell 2,3-diphosphoglycerate: its relation to plasma thyroxine. *Respiration Physiology*, 18: 26-33, 1973.
249. VITERI, F. E., TORUN, B.: Anaemia and physical work capacity. *Clinics in Haematology*, 3: 609-626, 1974.
250. VIVES CORRONS, J. L.: Importancia del ciclo de Rapoport y del 2,3-difosfoglicerato en el metabolismo intraeritrocitario. *Medicina Clínica*, 62: 43-47, 1974.
251. WEISS, E. B., DESFORGES, J. F.: Oxyhemoglobin affinity in bronchial asthma: chronic stable state, acute, and status asthmaticus. *Chest*, 62: 709-716, 1972.
252. WHAUN, J., DELIVORIA-PAPADOPOULOS, M., HENDERSON, L., WEISSBERG, J., OSKI, F.: Red-cell phosphate and hemoglobin oxygen affinity in uremia. *New England Journal of Medicine*, 281: 966, 1969.
253. WILLIAMS, M. H. Jr.: Hypoxemia due to venous admixture in cirrhosis of the liver. *Journal of Applied Physiology*, 15: 253-254, 1960.
254. WINTER, R. J., HARRIS, C. J., PHILLIPS, L. S., GREEN, O. C.: Diabetic ketoacidosis. Induction of hypocalcemia and hypomagnesemia by phosphate therapy. *American Journal of Medicine*, 67: 897-900, 1979.
255. WINTERHALTER, K. H.: Glykosylierte Hämoglobine und ihre Bedeutung beim Diabetes mellitus. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 109: 105-106, 1979.
256. WOLFE, J. D., TASHKIN, D. P., HOLLY, F. E., BRACHMAN, M. B., GENOVESI, M. G.: Hypoxemia of cirrhosis. *American Journal of Medicine*, 63: 746-754, 1977.
257. WOOD, L. A., BEUTLER, E.: The effect of periodic mixing on the preservation of 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) levels in stored blood. *Blood*, 42: 17-25, 1973.
258. WOODSON, R. D.: Red cell adaptation in cardiorespiratory disease. *Clinics in Haematology*, 3: 627-648, 1974.
259. ZAROULIS, C. G., SPECTOR, J. E., EMERSON, C. P., VALERI, C. R.: Physiologic effects of therapeutic transfusion of red blood cells with increased 2,3-diphosphoglycerate and decreased oxygen affinity. XVI International Congress of Hematology, Abstracts, 46-47. Kyoto (Japan), 1976.
260. ZAROULIS, C. G., KOURIDES, I. A., VALERI, C. R.: Red cell 2,3-diphosphoglycerate and oxygen affinity of hemoglobin in patients with thyroid disorders. *Blood*, 52: 181-185, 1978.
261. ZIMMON, D. S.: Oxyhemoglobin dissociation in patients with hepatic encephalopathy. *Gastroenterology*, 52: 647-654, 1967.

CLAVE DE ABREVIATURAS MAS UTILIZADAS

CLAVE DE ABREVIATURAS MAS UTILIZADAS

- a: coeficiente de relación lineal (coeficiente angular).
- A: grupo de enfermos con anemia simple.
- A_{695} : absorbancia a 695 nm.
- ATP: adenosintrifosfato.
- b: coeficiente de relación lineal (ordenada en el origen).
- B: grupo de enfermos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
- BUN: nitrógeno ureico sanguíneo (en mg %).
- C: grupo de enfermos con cirrosis hepática, hombres (C1) y mujeres (C2).
- CaO_2 : contenido arterial de oxígeno (en ml %).
- CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media (en %).
- CO_3H^- : bicarbonato plasmático (en mEq/l).
- CvO_2 : contenido venoso de oxígeno (en ml %).
- 1,3-DPG: 1,3-difosfoglicerato intraeritrocitario.
- 2,3-DPG: 2,3-difosfoglicerato intraeritrocitario (en μ moles/ml de hematíes [mM] o en μ moles/g Hb).
- DPGM: difosfogliceratomutasa.
- DPGP: difosfogliceratofosfatasa.
- E: grupo de enfermos eutiroideos.
- F: sexo femenino.
- g: gramos.
- G: glucemia (en mg %).
- H: grupo de enfermos con hipertiroidismo.
- Hb: hemoglobina (en g %).
- Hcto: índice hematocrito (en %).
- HK: hexoquinasa.
- HO: hematocrito original (en %).
- J: grupo de sujetos sanos control de edades comprendidas entre 1 y 24 años.
- K^+ : potasio plasmático (en mEq/l).
- L: lactato plasmático (en mg %).
- M: sexo masculino.
- mM: milimolar.

MPGM: monofosfogliceratomutasa.
 μ M: micromolar.
n: número de casos.
N: grupo de sujetos sanos control, hombres (N1) y mujeres (N2).
NS: no significativo estadísticamente.
p: significación estadística (probabilidad de error).
P: fosfato sérico inorgánico (en mg %).
p50: presión parcial de oxígeno a la cual la hemoglobina se encuentra saturada en un 50 %.
PC: "packed cells" o hematíes concentrados.
pCO₂: presión parcial de CO₂ arterial (en mm Hg).
PFK: fosfofructoquinasa.
3-PG: 3-fosfoglicerato.
PGK: fosfogliceratoquinasa.
PGM: fosfoglucomutasa.
PK: piruvatoquinasa.
pO₂: presión parcial de oxígeno arterial (en mm Hg).
r: coeficiente de correlación lineal.
R: grupo de enfermos con insuficiencia renal crónica.
SaO₂: saturación de oxígeno de la hemoglobina en sangre arterial (en %).
T: grupo de enfermos con hipotiroidismo, con anemia (T1) y sin anemia (T2).
T₃: triyodotironina total circulante (en ng %).
T₄: tiroxina total circulante (en μ g %).
TCA: ácido tricloroacético.
TSH: hormona tiroestimulante (en ng/ml).
SD: desviación standard.
SEM: error standard de la media.
V: grupo de sujetos sanos control de más de 24 años.
 \bar{x} : media aritmética.