



Revisión de conjunto

Clinica Puerta de Hierro. Centro Nacional de Investigaciones medico-quirúrgicas de La Seguridad Social. Madrid.

TRANSPORTE DE OXIGENO

María Teresa García Carmona *

Generalidades

El transporte de oxígeno de los alvéolos pulmonares hasta las células de los distintos tejidos del organismo es un proceso en el que intervienen distintos sistemas, pudiéndose resumir el conjunto de todos ellos de la siguiente manera:

- Sistema ventilatorio.
- Sistema circulatorio.
- Concentración de hemoglobina en los eritrocitos.
- Difusión del oxígeno de las paredes capilares.
- Mecanismos de consumo de oxígeno.

Los dos primeros apartados, así como el de la difusión a través de las paredes capilares, se mencionan simplemente ya que se salen del objetivo de este trabajo, orientado principalmente al análisis de los aspectos bioquímicos implicados en el transporte de oxígeno.

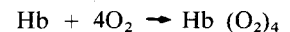
En el hombre normal este complejo sistema se ajusta a las necesidades tisulares y es capaz de mantener una adecuada PO_2 tisular, ya que cada uno de estos sistemas tiene sus propios mecanismos de regulación. El transporte de oxígeno debe ser tal que permita a un hombre medio, en reposo, consumir diez milimoles de oxígeno por minuto ¹

y si es preciso aumentar el aporte de oxígeno cuando las condiciones lo requieran.

El sistema circulatorio afecta al transporte de oxígeno por medio del gasto cardíaco y de la distribución del flujo sanguíneo periférico. El gasto cardíaco en condiciones basales es de cuatro a cinco litros por minutos. Para una máxima capacidad de transporte de oxígeno por la hemoglobina de 10 milimoles por litro de sangre, dicho gasto cardíaco proporciona 50 milimoles de oxígeno por minuto. El mayor determinante del gasto cardíaco es la actividad metabólica de los tejidos ^{2,3}, en cambio la PO_2 arterial no influye más que débilmente sobre él y por un período corto de tiempo. La respuesta circulatoria es rápida, del orden de algunos minutos.

De todo el oxígeno que transporta la sangre, una pequeña parte se encuentra disuelta físicamente en el plasma, pudiéndose cuantificar multiplicando la presión parcial que alcanza por el coeficiente de solubilidad del oxígeno en el plasma. Este coeficiente equivale a los mililitros de oxígeno disueltos en un mililitro de plasma a una temperatura dada cuando la PO_2 de la fase gaseosa es de una atmósfera. El valor de este coeficiente deducido de la ley de Boyle Mariotte, a 38° C es de 0,023 mililitros de oxígeno por mililitro de sangre, valor que se convierte en 0,0031 cuando se expresa en fracciones de milímetro de mercurio y por cien mililitros de sangre ⁴.

El resto del oxígeno transportado por la sangre se encuentra unido a la hemoglobina mediante un proceso independiente de todo sistema enzimático, según la reacción:



Esta reacción es reversible y su equilibrio está regulado por la PO_2 . En las condiciones que normalmente existen en los alveolos (PO_2 altas), la reacción se desplaza a la derecha y se oxida la mayor parte de la hemoglobina reducida captándose oxígeno. En los capilares tisulares, donde la PO_2 desciende a niveles mucho más bajos, el equilibrio se desplaza hacia la izquierda y la hemoglobina se reduce, liberándose oxígeno. Este mecanismo de oxidación-reducción favorece el transporte de una mayor cantidad de oxígeno de los pulmones a los tejidos y su liberación rápida a nivel tisular

La cantidad de oxígeno que transporta la sangre unido a la hemoglobina se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$\begin{aligned} \text{Contenido de } O_2 &= \\ &= 1,39 \times \text{conc. Hb} \times \text{Sat } O_2 \end{aligned}$$

siendo:

Contenido de O_2 = mililitros de oxígeno por cien mililitros de sangre; 1,39 = máxima capacidad de oxigenación de la hemoglobina; Conc. Hb = / Concentración de hemoglobina en gr. por cien y Sat. O_2 = Saturación de

Recibido el día 23 de enero de 1979

* Jefe Adjunto del Servicio de Funciones Respiratorias.

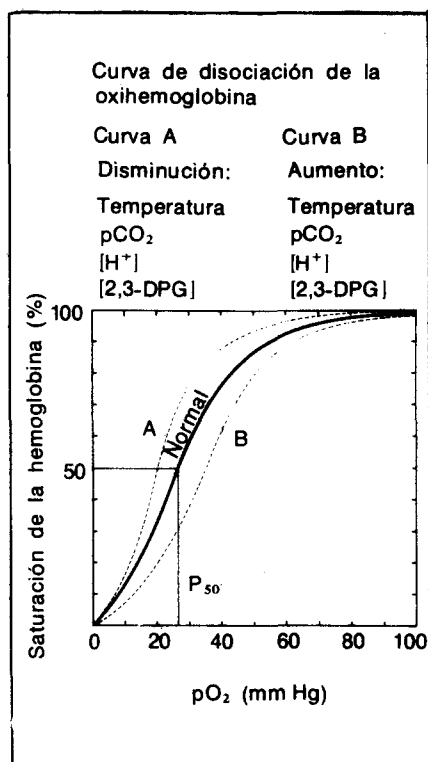


Fig. 1. Curva de disociación de la oxihemoglobina. La curva del centro corresponde a una hemoglobina con la afinidad por el oxígeno normal; la curva A a una hemoglobina con la afinidad aumentada y la B a una hemoglobina con la afinidad disminuida.

oxígeno de la hemoglobina en tanto por cien.

El valor 1,39 expresa la cantidad de oxígeno que transporta un gr. de hemoglobina cuando la sangre está totalmente saturada. Este valor es un valor teórico que se deduce de la relación estequiométrica entre el volumen molar del oxígeno y el peso molecular que actualmente se da a la hemoglobina. Prácticamente se obtiene dividiendo el contenido máximo de oxígeno por la concentración de hemoglobina.

$$\text{Cap O}_2 \text{ Hb} = \frac{\text{max cont O}_2 \text{ (ml \%)}}{\text{conc Hb (g \%)}}$$

Este valor ha sido muy discutido encontrándose en la bibliografía resultados contradictorios⁵⁻¹⁰. Esto se debe, entre otras cosas a la carboxihemoglobina que pueden tener las sangres. En la práctica, el máximo contenido de oxígeno unido a la hemoglobina se obtiene por el método de Van Slyke, método que mide todo el oxígeno presente en la muestra. La concentración de hemoglobina se determina por la técnica de cianmethemoglobina, técnica

que mide toda la hemoglobina presente esté o no unida al oxígeno. Cuando en la sangre a analizar existen cantidades apreciables de carboxihemoglobina, la cantidad de hemoglobina disponible para unirse al oxígeno disminuye y, por tanto, la máxima capacidad de oxigenación va a ser menor que la cifra teórica. En estos casos es necesario hacer la siguiente corrección:

$$\text{Cap O}_2 \text{ Hb} = \frac{\text{máx cont O}_2}{\text{Hb total} - \text{CoHb}}$$

Domínguez de Villota y cols.⁵ han analizado recientemente la influencia de la carboxihemoglobina en la capacidad de combinación de la hemoglobina con el oxígeno. Estudiaron sangre de personas fumadora cuya concentración media de carboxihemoglobina era 7 %, encontrando que la capacidad de combinación de la hemoglobina con el oxígeno tenía un valor de 1,33, valor que corregido teniendo en cuenta la concentración de carboxihemoglobina se convirtió en el teórico de 1,39.

La concentración de hemoglobina está regulada por la eritropoyetina, mecanismo renal que mantiene en equilibrio las necesidades de oxígeno de riñón y el aporte sanguíneo de oxígeno. Una disminución de la saturación aumenta la producción de eritropoyetina, siendo éste un mecanismo de adaptación lento del orden de algunas semanas¹¹.

El conjunto de los sistemas del transporte de oxígeno tiende a mantener constante la PO₂ tisular por equilibrio entre el aporte y la demanda de oxígeno. La cantidad de oxígeno consumido por los tejidos en la unidad de tiempo (VO₂), es igual a la diferencia entre el oxígeno que entra en el tejido por la vía arterial y el que sale por la vía venosa. Esto queda plasmado en la ecuación del equilibrio de la PO₂ tisular:

$$(\dot{V}O_2) = \dot{Q} \cdot \text{Cont. O}_2 (S_a - S_v)$$

Siendo:

(VO₂) = Consumo de oxígeno en moles por minuto; Q = Flujo sanguíneo en litros por minuto; Cont. O₂ = Contenido de oxígeno a saturación completa de la hemoglobina (mililitros por cien) y Sa y Sv = Saturación de la sangre arterial y venosa (tanto por cien).

Esta ecuación es fenomenológica y no tiene más que un sentido limitado: a presión parcial de oxígeno arterial y venosa fija la saturación de una sangre no depende más que de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno¹².

Afinidad de la hemoglobina por el oxígeno

La afinidad de la hemoglobina por el oxígeno define la relación entre la cantidad de oxígeno libre, expresado por la PO₂, y la cantidad de oxígeno ligado a la hemoglobina expresado por la saturación. Esta relación está representada en la curva de disociación de la hemoglobina, curva que ha sido calculada por diversos autores¹³⁻¹⁹ (fig. 1).

La forma y posición de esta curva dependen de muchos factores, pero principalmente de la temperatura, concentración de H⁺ (efecto Böhr), PCO₂ (efecto Haldane) y de la concentración de 2,3 DPG²⁰⁻²², de tal manera que una disminución de estos parámetros producen un desplazamiento de la curva a la izquierda y, al contrario, aumentos desplazan la curva a la derecha. En la práctica son muchos los factores que pueden alterar esta curva y de hecho cada individuo presenta la suya propia. Ante la dificultad de calcularla en cada caso y la utilidad de conocerla, se ha buscado un dato que pueda dar idea de la posición de esta curva. Este dato es la llamada P₅₀: presión parcial de oxígeno necesaria para saturar la hemoglobina al 50 % en condiciones standard determinadas (pH = 7,40; PCO₂ = 40 mm de Hg y temperatura = 37° C). Aumentos de la afinidad producen un desplazamiento de la curva hacia la izquierda y una disminución de la P₅₀ y, al contrario, un descenso de la afinidad de la hemoglobina aumenta la P₅₀ y la curva se desplaza hacia la derecha.

La curva de disociación de la hemoglobina tiene forma sigmoide de la que derivan consecuencias fisiológicas importantes. La toma de oxígeno a nivel pulmonar está poco influida por la posición de la curva, ya que las PO₂ existentes normalmente en los alvéolos suelen caer dentro de la parte horizontal alta de la curva. En cambio en la liberación de oxígeno a nivel tisular influye mucho la posición de la curva, ya que las PO₂ a las que sale la sangre venosa se encuentran en el tramo medio de la curva. La disminución de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno favorece la liberación de éste a los tejidos, siendo un mecanismo compensador de la hipoxia¹.

La forma sigmoide se debe a las propiedades específicas de la molécula de hemoglobina y a los cambios que en ella se producen durante la oxigenación y desoxigenación. A su vez, la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno está determinada, como hemos dicho anteriormente, por la actividad de tres mo-

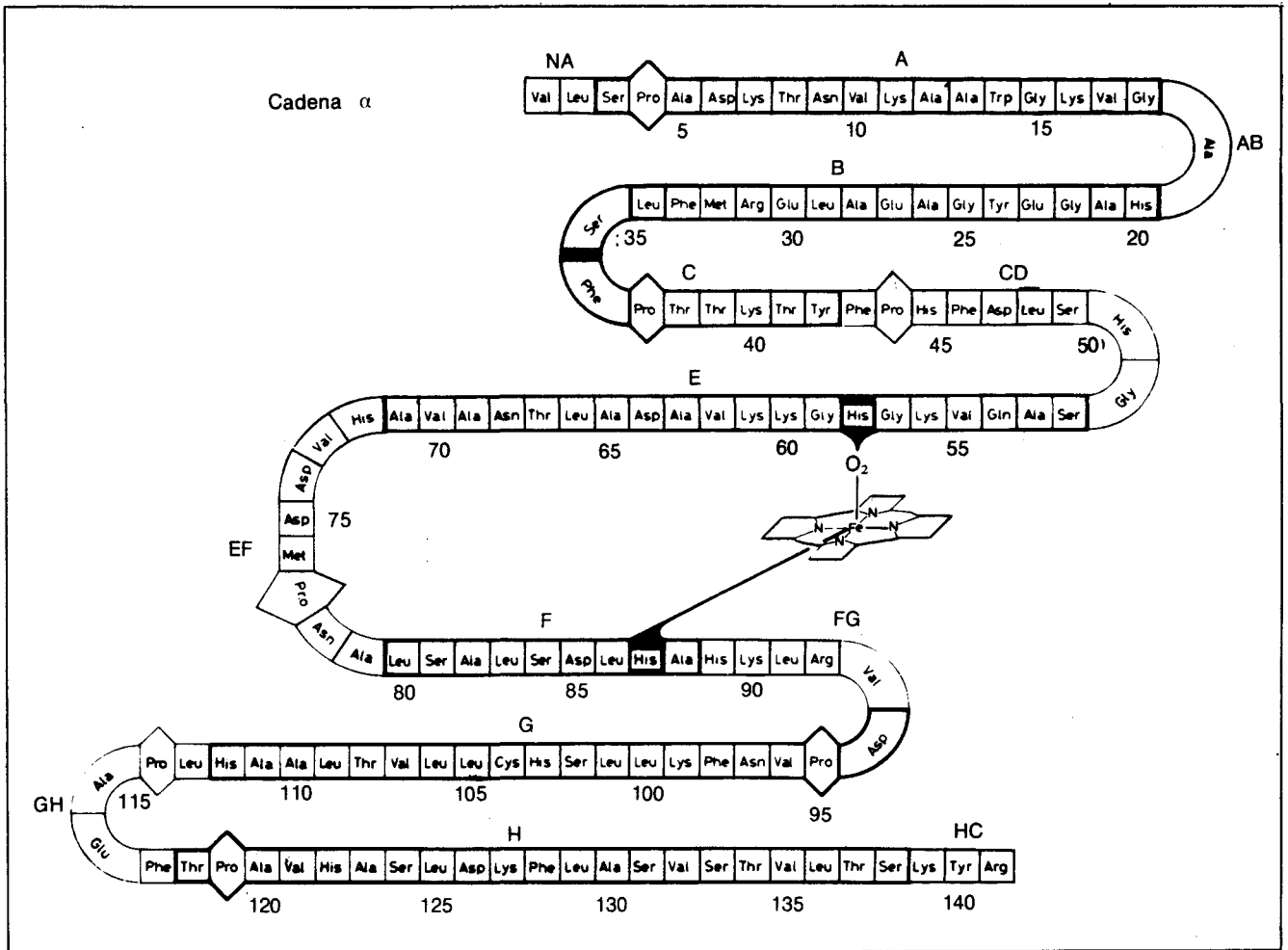


Fig. 2. Estructura secundaria de una cadena α de la hemoglobina normal del adulto. (Lehmann, H., Huntsman, R.G. En Holland publishing company, Amsterdam, 1974).

lécúlas presentes normalmente en el eritrocito: el protón, el anhídrido carbónico y el 2,3 DPG que influyen en la unión del oxígeno con la hemoglobina ^{14,20,22-30}

a) Estereoquímica de la hemoglobina

Para comprender mejor los fenómenos que se producen durante la oxigenación y desoxigenación de la hemoglobina y la interacción con las moléculas antes dichas, lo mejor es analizar la estructura estereoquímica de la hemoglobina. En la última década se ha avanzado mucho en el conocimiento de esta estructura gracias a los trabajos que se han llevado a cabo en cristalografía de rayos X y hoy día se ha conseguido un modelo de la estructura cuaternaria de la hemoglobina ^{28,31}.

La molécula total de hemoglobina consta de cuatro subunidades compuestas cada una de ellas por una parte proteica (la globina), unida a una parte

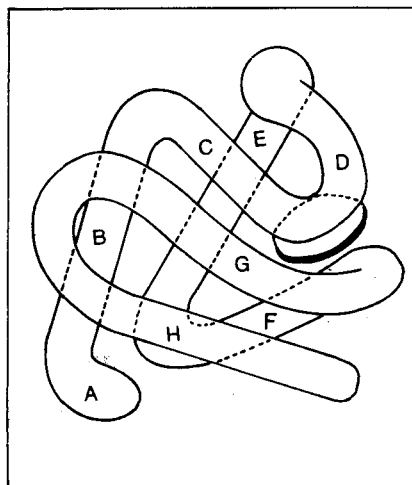


Fig. 3. Estructura terciaria de una cadena β de la hemoglobina A del hombre. Las letras A,B,C,D,E,F,G y H indican los segmentos helicoidales de la molécula. El núcleo de porfirina está representado en forma de disco. (Robert, M.: Affinité de l'hémoglobine pour l'oxigène. Bull. eurp. Physiopath. resp. 11, 79, 1975.)

no proteica, el hemo, porfirina que tiene en el centro un átomo de hierro. Este se oxida por el oxígeno y pasa a hierro férrico, mecanismo por el cual la hemoglobina transporta oxígeno. Si cualquier otro agente diferente al oxígeno es capaz de oxidar al hierro la hemoglobina pierde la capacidad de transportar oxígeno; ha habido una oxidación, pero no una oxigenación y, en ese caso, se forma methemoglobina.

Normalmente, la estructura completa de la hemoglobina se suele desglosar en cuatro lo que ayuda a comprender mejor la complejidad de esta molécula. La estructura primaria, secundaria y terciaria describen cada una de las subunidades, y es la estructura cuaternaria la que engloba la molécula total de hemoglobina.

La estructura primaria describe la secuencia de aminoácidos que forman cada una de las cadenas polipeptídicas y su unión con hemo. La hemoglobina del adulto normal consta de cuatro ca-

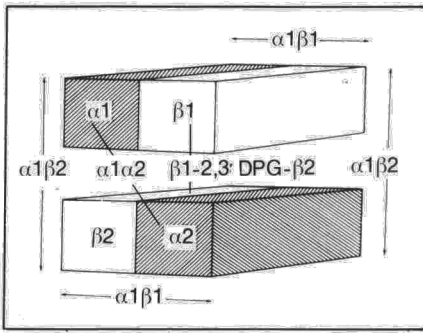


Fig. 4. Representación esquemática del tetramero de hemoglobina. (Lehmann, H., Huntsman, R. G. en «Man's haemoglobins». 70, Holland publishing company, Amsterdam, 1974.)

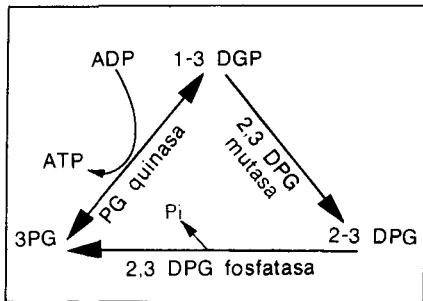


Fig. 5. Ciclo bioquímico de Rappoport-Luebering.

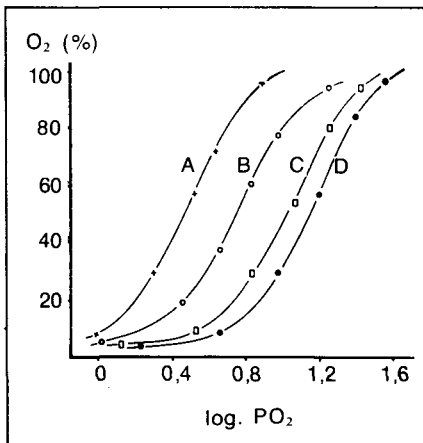


Fig. 6. Efectos del 2,3 DPG sobre la curva de disociación de la hemoglobina humana: A sin 2,3 DPG; B 10^{-4} M 2,3 DPG; C 6×10^{-4} M 2,3 DPG; D 10×10^{-4} M 2,3 DPG. (Benesch, R., Benesch R. E., Nature, 221: 618, 1969.)

denas polipeptídicas, iguales dos a dos, que se denominan normalmente cadenas $\alpha_1 \alpha_2$ y $\beta_1 \beta_2$, compuestas las cadenas alfa por 141 aminoácidos y las beta por 146.

La estructura secundaria refiere la disposición helicoidal que adquieren cada una de las cadenas polipeptídicas. En las cadenas alfa se forman siete

segmentos helicoidales y ocho en la beta (fig. 2).

La estructura terciaria describe la orientación en el espacio de estos segmentos helicoidales bajo forma globular. El hemo queda en la superficie de la globina estando envuelto por paquetes hidrofóbicos que protegen la oxidación al hierro (fig. 3). La estructura terciaria de las cadenas alfa y beta es casi la misma. Las subunidades, también llamadas monómeros, vienen pues definidas por una estructura primaria, una secundaria y una terciaria.

La estructura cuaternaria indica la formación del tetramero de hemoglobina por unión de los cuatro monómeros y su orientación en el espacio. Existen múltiples posibilidades de unión de los cuatro monómeros, ya que la hemoglobina es una proteína alostérica, que darían origen a múltiples estructuras cuaternarias, de las cuales sólo dos son estables: la estructura llamada «deoxy» que corresponde a la hemoglobina reducida y que no es capaz de fijar oxígeno y la oxy, que corresponde a la hemoglobina oxidada con capacidad de fijar oxígeno.

Para la formación del tetramero de hemoglobina, primero se une un monómero α_1 con otro β_1 y uno α_2 con otro β_2 formando dos dímeros. Estas uniones se originan entre restos de aminoácidos de cada una de las cadenas, implicando un total de 16 aminoácidos de la cadena α y 18 de la β . Estos enlaces son muy estables y no se rompen en la oxigenación (fig. 4).

Los dímeros también están unidos entre sí, pero estas uniones no son estables como las anteriores y permiten una considerable rotación y deslizamiento de cada una de sus caras durante la oxigenación y desoxigenación. Estos enlaces son de varios tipos, siendo los más numerosos los de tipo $\alpha_1 \beta_2$ (análogos a los $\beta_1 \alpha_2$). Comprenden un total de 19 restos de aminoácidos (10 α y 9 β), de los cuales dos se rompen en la oxigenación, que son los marcados en la figura.

Existen, además, entre los dos dímeros uniones de tipo $\alpha_1 \alpha_2$ que, aunque no son muy numerosas, son muy importantes, ya que sólo existen en la configuración «deoxy». Juegan un importante papel en la interacción «hemo-hemo», son las responsables del efecto Böhr permitiendo la toma de hidrogeniones por la hemoglobina reducida y favorecen el transporte de anhídrido carbónico mediante la formación de compuestos carbamínicos (efecto Haldane). Estas uniones se rompen en la oxigenación de la hemoglobina.

Existen, también, entre los dos dímeros uniones entre las dos cadenas β , pero éstas no están unidas entre sí directamente. En la forma «deoxy», la separación entre las dos cadenas es tal que pueden albergar entre ellas una molécula de 2,3 DPG, haciendo este de puente entre ambas, lo que da estabilidad a esta estructura. Este puente cierra el paso del oxígeno hasta el hemo de las cadenas β . Con la oxigenación éstas se aproximan y la unión se rompe, saliendo fuera la molécula del 2,3 DPG.

b) Oxigenación del tetramero de hemoglobina ³²

La oxigenación comienza por los «hemos» de las subunidades α , ya que en éstas el «hemo» va unido a la cadena en cavidades más anchas que en las β y a las que es más fácilmente accesible el oxígeno, ya que no existe el puente del 2,3 DPG. La toma de oxígeno por el hemo de las cadenas α provoca un cambio estructural en el átomo de hierro, lo que repercute en las uniones contiguas y origina la ruptura de las uniones $\alpha_1 \alpha_2$, no pudiendo ya la hemoglobina en estas circunstancias aceptar hidrogeniones ni combinarse con el anhídrido carbónico. Estas rupturas causan cambios estructurales en las cadenas β : por una parte se ensanchan las cavidades β -hemo, con lo que ya pueden recibir el oxígeno y por otra, las cadenas β se aproximan, la molécula del 2,3 DPG sale fuera y desaparece el obstáculo para la llegada del oxígeno al β hemo.

Vemos, por tanto, que la oxigenación del primer hemo es francamente difícil, pero una vez que se ha conseguido se producen una serie de cambios estructurales en la molécula que favorecen la oxigenación de los hemos sucesivos. Esta es la razón por la cual la curva de disociación de la hemoglobina tiene forma sigmoide.

c) Mecanismos de regulación de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno

La regulación de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno se lleva a cabo, principalmente, a través de tres moléculas presentes en el eritrocito: el hidrogenion, el anhídrido carbónico y el 2,3 DPG, moléculas que como hemos visto anteriormente sólo se pueden unir a la hemoglobina en la forma deoxy. Por tanto, estas moléculas favorecen la estructura deoxy de la hemoglobina, lo que lleva consigo una disminución de la afinidad.

El desplazamiento de la curva de disociación de la hemoglobina hacia la derecha producido por un aumento de acidez, se conoce con el nombre de efecto Böhr. La importancia fisiológica de este efecto es enorme, y por él la hemoglobina durante la desoxigenación puede captar hidrogeniones provenientes de la disociación del ácido carbónico, permitiendo así la generación de iones bicarbonato y el transporte de CO₂ con una modificación mínima del pH. A su vez, la acidificación de la sangre favorece la estructura «deoxy» de la hemoglobina, lo que, facilita la liberación de oxígeno a los tejidos.

El 2,3 DPG se origina en un ciclo derivado de la glucólisis eritrocitaria que se conoce con el nombre de «ciclo de Rapoport-Luebering» (fig. 5). Todas las células dotadas de un poder glucolítico realizan el paso del ácido 1, 3 difosfoglicérico a 3 fosfoglicérico, con la producción de una molécula de ATP, pero solamente el hematíe posee los enzimas necesarios para la formación de 2,3 DPG³³.

La existencia del 2,3 DPG en los hematíes se conoce desde hace 50 años, habiéndose ya observado que la concentración de este metabolito es varias veces superior a la de otros intermediarios glucolíticos a excepción del ATP.

La importancia fisiológica del 2,3 DPG como regulador de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, se puso de manifiesto al comprobar que los glóbulos rojos intactos tenían una afinidad por el oxígeno mucho menor que soluciones de hemoglobina pura, y que si a estas soluciones se iban añadiendo cantidades crecientes de 2,3 DPG, su afinidad iba disminuyendo y las curvas de disociación de la hemoglobina se desplazaban a la derecha²⁴ (fig. 6).

La concentración de 2,3 DPG en los glóbulos rojos depende de muchos factores, entre ellos los más importantes son el pH y el grado de oxigenación de la sangre. El pH es un regulador de la glucólisis, regulación que se lleva a cabo a nivel de la fosfofructoquinasa (PFK), enzima que cataliza el paso de la fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-difosfato. Este enzima se activa por pH alcalinos y se inhibe por pH ácidos. Por tanto, la concentración de 2,3 DPG aumenta en las alcalosis y disminuye en las acidosis. Estas variaciones de 2,3 DPG en respuesta a cambios de pH son lentas, produciéndose al cabo de seis horas^{34,35}. El grado de oxigenación de la sangre regula el ciclo de Rapoport-Luebering, no estando muy claros los mecanismos de esta regulación. El hecho es que la concentración

de 2,3 DPG aumenta en hipoxias lo que supone un mecanismo de compensación y favorece la oxigenación de los tejidos en estos casos. Utilizando glóbulos rojos hemolizados como fuente de 2,3 DPG mutasa y fructosa 1-6 difosfato como sustrato, se ha demostrado que la síntesis de 2,3 DPG está favorecida por la deoxihemoglobina^{20,22}

d) Métodos de medida de la curva de disociación de la hemoglobina

Existen diversas maneras de determinar la curva de disociación de la hemoglobina^{36-40,1} pudiéndose agrupar los distintos métodos en los siguientes grupos:

1) Los que miden la saturación de la hemoglobina a PO₂ variable y conocida. Estos métodos implican la tonometrización «in vitro» de la sangre a presiones de oxígeno que originen saturaciones comprendidas en la parte «casi recta» de la curva de disociación de la hemoglobina. Calculan a continuación la P₅₀ llevando los datos obtenidos a la fórmula de Hill.

2) Los que miden la PO₂ de la sangre a saturaciones predeterminadas. Generalmente, en estos métodos se mezclan partes alícuotas de sangre totalmente oxidada y totalmente reducida, obteniéndose una nueva sangre saturada al 50 %. La PO₂ de esta nueva sangre será la P₅₀.

3) Métodos dinámicos que permiten el registro continuo del contenido de oxígeno y de la PO₂ durante la fase de saturación. Con estos métodos se obtiene la curva de disociación de la hemoglobina completa.

4) Métodos de cálculo de la P₅₀ a partir de los valores conocidos de PO₂ y saturación de la oxihemoglobina. En estos métodos se hace una sola medida de PO₂ y saturación y se calcula la P₅₀ con fórmula o nomogramas²⁴.

e) Modificaciones de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno en diversas situaciones fisiológicas y patológicas

Comencemos por analizar los cambios de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno durante la adaptación del hombre a la *altitud*. En estas circunstancias se ponen en juego todos los mecanismos capaces de aumentar el transporte de oxígeno⁴²⁻⁴⁴. Todos los autores coinciden en que en la altitud se produce un aumento de la P₅₀ de 4 a 5 mm Hg, lo que se debe a un au-

mento del 2,3 DPG⁴⁴. Este aumento se produce, principalmente, por la alcalosis que origina la hiperventilación y también por el aumento de la hemoglobina reducida.

El *ejercicio físico* se acompaña de un desplazamiento de la curva de disociación de la hemoglobina hacia la derecha. El mecanismo por el cual se produce este desplazamiento no se puede definir claramente, ya que durante el ejercicio físico se producen una serie de modificaciones del equilibrio ácido-base, que pueden influir por sí mismas en la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. De hecho Shappell y cols.⁴⁵, han encontrado un aumento de la P₅₀ durante el ejercicio, así como Robert y col.¹, también encuentra una disminución de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno medida «in vivo».

Analizamos a continuación los fenómenos que se producen en la *insuficiencia respiratoria*, ya sea aguda o crónica. La hipoxia que se producen en cualquier caso está ligada a modificaciones importantes del equilibrio ácido-base, de la concentración de hemoglobina y de los flujos circulatorios sistémicos y locales, lo que hace muy complejo el estudio de la regulación del transporte de oxígeno en este caso. Las desviaciones de las curvas de disociación de la hemoglobina en la insuficiencia respiratoria, han sido estudiadas por diferentes autores, encontrándose en la literatura resultados contradictorios^{41,46,47}. Lenfant y col., han visto que estas desviaciones dependen de la concentración de hemoglobina de los pacientes, encontrando desviaciones hacia la izquierda cuando el hematócrito es normal (P₅₀ = 24,6 mm Hg) y hacia la derecha en pacientes con policitemia (P₅₀ = 29,2 mm Hg).

Las razones de estos desplazamientos no están claras; por otra parte, estos autores no han medido el 2,3 DPG. Edwards y col.^{48,49} estudiando cinco enfermos de insuficiencia respiratoria obstructiva crónica con hipoxemia severa (PO₂ = 32-47 mm Hg), concentración de hemoglobina aumentada (19 g/100 ml) y acidosis (pH = 7,31 - 7,36) han encontrado valores de P₅₀ y 2,3 DPG dentro de los límites normales. Valeri y cols⁵⁰ han visto, en pacientes con insuficiencia cardiorespiratoria y policitemia secundaria, valores normales o ligeramente disminuidos de P₅₀ y 2,3 DPG, mientras que en los pacientes con insuficiencia respiratoria sin policitemia, la curva de disociación de la hemoglobina está desviada a la derecha y la concentración de 2,3 DPG está aumentada. No hay trabajos en la bi-

biografía que estudien estas cuestiones en casos agudos, salvo dos pacientes estudiados por Agostini⁵¹, uno con parada cardiorespiratoria y otro con acidosis respiratoria grave, encontrándose en ambos casos una desviación de la curva a la derecha probablemente debida a la acidosis y a la hipercápnia.

En la *insuficiencia cardiaca* se produce una hipoxia por disminución del aporte de oxígeno a los tejidos como consecuencia de la reducción del flujo sanguíneo. Varios autores han visto una disminución de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno asociada a aumentos de la concentración de 2,3 DPG^{48,52}. Woodson y su equipo han podido correlacionar la P_{50} con numerosas variables capaces de modificar el aporte de oxígeno a los tejidos, siendo altamente significativa la correlación encontrada entre la saturación de la sangre venosa mezclada, el 2,3 DPG y la P_{50} , lo que demuestra que la cantidad de hemoglobina reducida es un importante regulador «in vivo» de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno⁵².

La *anemia* disminuye el aporte de oxígeno a los tejidos por disminución de la concentración de hemoglobina. Numerosos trabajos^{53,54} coinciden en afirmar que la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno está disminuida y que esta disminución se debe a un aumento de la concentración de 2,3 DPG. El mecanismo de este aumento en la anemia no está claro.

Las *hemoglobinopatías* causan trastornos importantes de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Una hemoglobina anormal asociada a una policitemia presenta, habitualmente, la afinidad por el oxígeno aumentada; al contrario, una hemoglobina anormal asociada a una afinidad por el oxígeno baja no se acompaña de una policitemia⁵⁰.

El *monóxido de carbono* aumenta la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno^{28,55}. Robert¹, ha determinado el efecto neto de concentraciones bajas de monóxido de carbono sobre la P_{50} , ya sea en sangres de personas fumadoras o en la de no fumadoras expuestas «in vitro» a una cierta concentración de CO y ha comprobado que el aumento de un 1% en la concentración de CO causa una disminución de 0,28 mm Hg en la P_{50} .

Por último vamos a tratar de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno en las *sangres conservadas*. Valtis y Kennedy, en 1954, describieron, por primera vez, el aumento de la afinidad de la hemoglobina en sangres conservadas a baja temperatura y pH

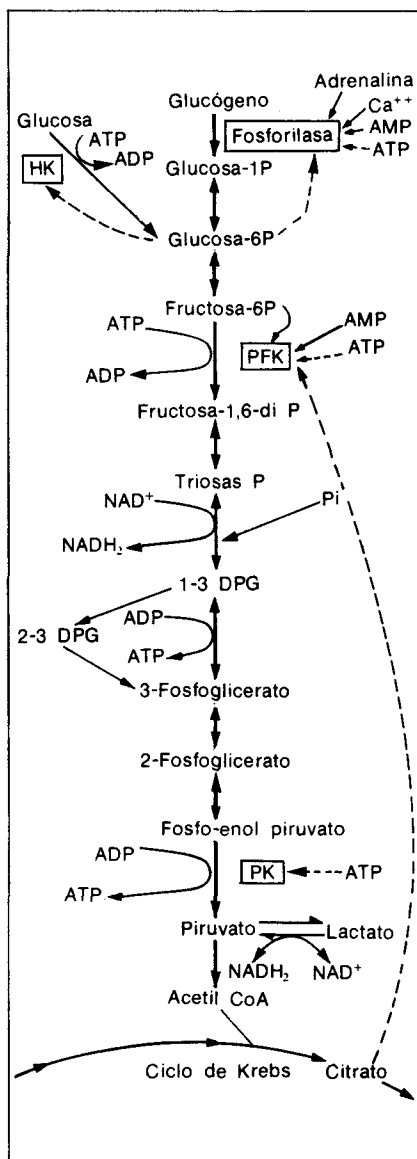


Fig. 7. Esquema de la glucólisis eritrocitaria.

ácido⁵⁶. Este aumento es debido a la disminución de 1,2 DPG⁵⁷. La P_{50} de una sangre después de dos semanas de conservación puede bajar hasta 20 ó 15 mm Hg. La concentración de 2,3 DPG se restablece en las horas que siguen a la transfusión siendo el restablecimiento tanto más lento cuanto más antigua es la sangre⁵⁸. Es posible aumentar la concentración de 2,3 DPG por manipulaciones bioquímicas. Incubando la sangre fresca o conservada con inosina - fosfato - piruvato se consigue este aumento⁵⁷. Se han hecho ensayos de transfusiones de sangre de este tipo a monos y parece ser que es necesario conseguir concentraciones elevadas de 2,3 DPG⁵⁹. El problema

de la transfusión al hombre de este tipo de sangre estriba en que el 2,3 DPG se metaboliza a hipoxantina y más tarde a ácido úrico que puede acumularse. Por tanto, en la actualidad existe una gran prudencia con este tipo de ensayos.

Mecanismos de consumo de oxígeno

Las últimas fases del transporte de oxígeno no están muy claras. En contraste con la gran cantidad de conocimientos sobre las vías bioquímicas implicadas en las reacciones del oxígeno en el cuerpo humano, se sabe muy poco en lo que concierne a los aspectos fisiológicos de estas reacciones⁶⁰. Desde este punto de vista el esclarecimiento de dos cuestiones es muy importante: conocer los valores actuales de PO_2 en los diversos tejidos y células, y saber la relación entre la PO_2 y las reacciones metabólicas de las células.

Existen a nivel celular, entre otros, cuatro mecanismos principales de consumo de oxígeno por el organismo humano⁶⁰. El primero es de carácter no enzimático; como ejemplo, pongamos la auto-oxidación de la hemoglobina a methemoglobina. En esta reacción el hierro transfiere electrones a los protones de la solución con la consiguiente formación de agua. Muchas drogas se pueden oxidar por esta vía y el agua oxigenada es a veces el producto final de la reacción. El oxígeno utilizado por esta vía es muy pequeño siendo del orden del 1% del total del consumo de oxígeno.

El resto de los mecanismos de utilización de oxígeno que se realizan en las células vivas son de carácter enzimático⁶¹. Se trata de simples fenómenos redox, conociéndose a los enzimas que catalizan estos procesos con la denominación de óxido reductasas. El primer grupo de estas reacciones es el concerniente a las oxidasas que actúan en el sustrato con el oxígeno como aceptor de electrones, y son generalmente flavoproteínas. El oxígeno utilizado por esta vía es una pequeña parte del consumo total de oxígeno.

El segundo grupo de reacciones enzimáticas son las que llevan consigo una incorporación directa del oxígeno al sustrato. Estas reacciones son catalizadas por las oxigenasas y las hidrolasas y suelen tener lugar en los microsomas de las células, función que se denomina «oxidación microsomal». Muchas drogas y esteroides se metabolizan por esta vía y según estudios recientes estas reacciones son muy sen-

sibles a los cambios de PO_2 . Su contribución al consumo total de oxígeno es un bajo tanto por ciento.

El 90 % del total del consumo de oxígeno se lleva a cabo por un cuarto grupo de reacciones que son las correspondientes a la citocromo-oxidasa. En estas reacciones los electrones del ferrocitocromo C se transfieren a las cadenas respiratorias, que son sistemas redox dispuestos de una forma altamente ordenada en las mitocondrias. Mediante la cadena de transporte electrónico se forman enlaces fosfatos de alta energía, principalmente ATP. La oxidación de diversos metabolitos, especialmente los integrados en el ciclo de Krebs, da lugar a tres moles de ATP por átomo de oxígeno consumido. Estas tres moléculas de ATP son el resultado de la respiración celular. Es importante hacer constar que casi todo el ATP que se forma en condiciones normales de respiración proviene de la cadena respiratoria. En condiciones normales de steady-state el total de ATP en el organismo es constante, ya que puede ser degradado tan rápidamente como se forma.

La energía química almacenada en las moléculas de ATP se puede transferir a otros sistemas físicos o químicos por medio de su hidrólisis enzimática debidamente acoplada. Las reacciones que originan esta hidrólisis se puede separar en dos grupos:

1) Las que son esenciales para la función de las células, en el sentido de que sólo se pueden interrumpir breves momentos con serios peligros para la vida y,

2) Las reacciones que, aún siendo esenciales, se pueden prescindir de ellas al menos algunas horas.

En el primer grupo se incluyen las reacciones que no se pueden interrumpir más de algunos minutos, como a) utilización del ATP por el músculo cardíaco y b) utilización del ATP para mantener la bomba sodio potasio en las membranas celulares. Esta es responsable del control del volumen de las células en el organismo y también de la generación de los potenciales eléctricos del cerebro y de los nervios periféricos. Se estima que la mitad del ATP consumido por el cuerpo se gasta en la bomba sodio potasio.

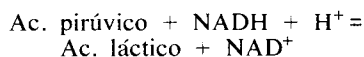
En el segundo grupo se encuentran las reacciones que utilizan la parte AMP del ATP para la construcción de otros nucleótidos y también que usan ATP para síntesis de polisacáridos y proteínas. Dentro de este grupo quizá puedan incluirse las reacciones de contracción del músculo.

Glucólisis

El ATP es utilizado tan rápidamente como se forma, por lo que las vías anteriormente señaladas necesitan el aporte continuo de oxígeno. Cuando la cantidad de éste, disponible por unidad de tiempo, es menor que la requerida por las necesidades tisulares, se produce una situación de anaerobiosis y la única manera posible de producir ATP es a partir de la glucólisis.

La glucólisis es la vía normal para la degradación metabólica de la glucosa⁶². Implica una serie de reacciones bioquímicas que conducen desde el glucógeno hasta la formación de ácido pirúvico, metabolito que entra directamente en el ciclo de Krebs. La oxidación de una molécula de glucosa por esta vía origina CO_2 , H_2O y 36 ATP (fig. 7).

En condiciones de anaerobiosis, la única manera posible de producir ATP es por transformación del ácido pirúvico en láctico, según la reacción siguiente:



La transición del metabolismo aerobio a anaerobio aumenta siete veces la velocidad de la glucólisis, y la reacción tiene carácter transitorio. Se realiza sólo en casos de carencia de oxígeno y durante un período de tiempo limitado, produciéndose dos moléculas de ATP por molécula de glucosa. Por tanto, en condiciones anaerobias, para satisfacer las necesidades energéticas se necesita una considerable producción de ácido láctico. Cuando el aporte de oxígeno es de nuevo suficiente, el ácido láctico vuelve al hígado, donde se verifica el proceso inverso, regenerándose ácido pirúvico que, en parte, es degradado por vía aeróbica y en parte produce de nuevo glucosa.

En condiciones normales de aerobiosis también se producen una cierta cantidad de ácido láctico, ya que la reacción es reversible, y el ácido pirúvico se interconvierte en aquél; existe un equilibrio fisiológico entre ambos, que en las condiciones de pH del organismo origina una relación lactato/piruvato (L/P) igual a 10. El valor normal del ácido láctico en sangre arterial, para una persona en reposo y valorado por el método enzimático, es de 0,7 mEq/litro aproximadamente, mientras que el del ácido pirúvico es de 0,07 mEq/litro^{63,64}.

Hückabee en 1961⁶⁵ definió claramente dos grupos bien diferenciados de hiperlactacidemias.

a) Las que derivan de un aumento de ácido pirúvico, con el consiguiente aumento de ácido láctico sin modificar la relación L/P . En estos casos se producen aumentos de lactato por perfusión de glucosa o bicarbonato, sobrecarga de piruvato, administración de insulina, adrenalina o glucagón, hiperventilación activa o pasiva y, en general, en los procesos que aceleran el metabolismo hidrocarbonado⁶⁶⁻⁶⁹.

b) Las que se producen por aumento en la relación $NADH/NAD^-$ indicando una disminución del potencial redox tisular y una hipoxia celular. En estas condiciones la L/P se eleva, lo que quiere decir que el aumento de ácido láctico no se explica por la elevación del ácido pirúvico. Aparece entonces un exceso de lactato característico de las hiperlactacidemias por anaerobiosis que se puede calcular mediante la fórmula siguiente:

$$EL = (L_m - L_n) - (P_m - P_n) L_n/P_n$$

siendo:

EL = Exceso de lactato; L_m = Valor medido de lactato; L_n = Valor normal de lactato; P_m = Valor medido de piruvato; P_n = Valor normal de piruvato y L_n/P_n = Valor normal de la relación L/P .

Assan y col.⁷⁰, describen la aparición de este tipo de acidosis láctica en anoxias tisulares locales o generalizadas, sea cual fuere su causa: problemas pulmonares, hemodinámicos o incluso del transporte de oxígeno.

Agradecimiento

Agradezco a los doctores Ruiz de André y Domínguez de Villota, sus valiosas indicaciones en la elaboración de este trabajo.

Resumen

Se hace una revisión general del transporte de oxígeno orientado principalmente el análisis de los aspectos bioquímicos implicados en él, comenzando por estudiar el papel de la hemoglobina como transportadora de oxígeno, tanto en lo que se refiere a su concentración como a su afinidad por el oxígeno.

Se estudia el significado de la máxima capacidad de oxigenación destacando la importancia que puede tener la presencia de caboxihemoglobina en la sangre, ya que ésta disminuye el valor teórico de la mencionada máxima capacidad de oxigenación. Se propone una corrección para el cálculo en el laboratorio del oxígeno que transporta



una sangre, teniendo en cuenta la concentración de carboxihemoglobina, siempre que se trate de personas fumadoras o se presuma que existan concentraciones elevadas de la misma.

A continuación se hace un estudio profundo de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno a través de la curva de disociación, comenzando por definir la P_{50} y discutiendo el significado fisiológico de los desplazamientos de dicha curva como consecuencia de los cambios de afinidad. Se describen en detalle la estructura de la molécula de hemoglobina, así como los fenómenos que se producen durante la oxigenación y desoxigenación del tetrámero de hemoglobina. Se incluyen también los mecanismos de regulación de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, resaltando la importancia de los hidrogeniones, PCO_2 y concentración de 2,3 DPG en esta regulación, siendo los aumentos de acidez y PCO_2 mecanismos de acción rápida, mientras que los de 2,3 DPG tardan algunas horas en producirse.

Se exponen brevemente los métodos de medida y se analizan las modificaciones de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno en diversas situaciones fisiológicas y patológicas.

Se describen los mecanismos de consumo de oxígeno a nivel celular, la formación de ATP y la utilización de la energía almacenada en esta molécula por el organismo. Por último, se expone la producción de ATP en casos de anaerobiosis por medio de la glucólisis

anaerobia, destacando que es necesaria la producción de una considerable cantidad de ácido láctico para satisfacer las necesidades energéticas por esta vía. Se mencionan las limitaciones que supone el empleo del aumento de la relación L/P y el exceso de lactato para diagnosticar las hipoxias celulares.

Summary

TRANSPORTATION OF OXYGEN

The authors make a general review of the transportation of oxygen oriented principally towards the analysis of the biochemical aspect implied in this process. They begin by studying the role of hemoglobin as transportation agent of oxygen, both with respect to its concentration as well as to its affinity for oxygen.

They also study the meaning of the maximum capacity of oxygenation, emphasizing the importance that carboxyhemoglobin in the blood can have, as this decreases the theoretical value of the mentioned maximum capacity of oxygenation. They propose a correction for the calculation in the laboratory of the oxygen transported by the blood taking into account the concentration of carboxyhemoglobin, always when the persons treated are smokers or they presume an elevated concentration of the same.

The authors then make a profound study of the affinity of hemoglobin for

oxygen through the curve of dissociation, beginning by defining P_{30} and discussing the physiological meaning of the displacement of said curve as a consequence of the changes of affinity. They describe in detail the structure of the molecule of hemoglobin as well as the phenomena produced during the oxygenation and desoxygenation of the tetramer of hemoglobin. They also include the mechanisms of regulation of affinity of hemoglobin for oxygen, emphasizing the importance of hydrogen ions, PCO_2 and concentration of 2,3 DPG in this regulation. The increases of acidity and of PCO_2 are mechanisms of rapid action, whereas those of 2,3 DPG delay some hours in being produced.

The authors then describe briefly the methods of measurement and analyze the modifications of the affinity of hemoglobin for oxygen in diverse physiological and pathological situations.

They also describe the mechanisms of consumption of oxygen at the cellular level, the formation of ATP and the use of energy stored in this molecule by the organism. Finally, they discuss the production of ATP in cases of anaerobiosis by means of glycolysis-anaerobia, emphasizing that the production of a considerable quantity of lactic acid is necessary to satisfy energetic necessities by this route. They mention the limitations that the use of the increase of the relation L/P supposes and the excess of lactate for diagnosing cellular hypoxias.

BIBLIOGRAFIA

- ROBERT, M.: Affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène. *Bull. europ. Physiopath., resp.* 11: 79, 1975.
- GUYTON, A. C.: Regulation of cardiac output. *Anaesthesiology*, 29: 314, 1968.
- MELLANDER, S.: Contribution of small vessel tone to the regulation of blood volume and formation of oedema. *Proc. R. Soc. Med.*, 61: 55, 1968.
- DAVENPORT, H. W.: ABC de l'équilibre biochimique acido-basique. Masson et Cie., Paris, 1970.
- DOMINGUEZ DE VILLOTA, E., GARCIA CARMONA, T., BARAT, G., ESTADA, J. y AVELLO, F.: The influence of carboxihemoglobin on the oxygen-binding capacity of blood. *Br. J. Anaesth.*, 48: 111, 1976.
- FOEX, P., PRYS, ROBERTS, C., HAHN, C. E. y FENTON, M.: Comparison of oxygen content of blood measured directly with values derived from measurements of oxygen tension. *Br. J. Anaesth.*, 42: 803, 1970.
- HUFNER, G.: Neue Versuche zur Bestimmung der Sauerstoff Capacität des Blutfarbstoffs. *Arch. Anat. Physiol., (Physiol.)*, 130, 1894.
- SCHERRER, M. y BACHOFEN, H.: The oxygen combining capacity of hemoglobin. *Anesthesiology*, 36: 190, 1972.
- SYKES, M. K., ADAMS, A. P., FINLAY, W. E., WIGHTMAN, A. E. y MONROE, J. D.: The cardiorespiratory effects of haemorrhage and overtransfusion in dogs. *Br. J. Anaesth.*, 42: 573, 1970.
- THEYE, R. A.: Calculation of blood O₂ content from optically determined Hb and HbO₂. *Anesthesiology*, 33: 653, 1970.
- KRANTZ, S. B. y JACOBSON, L. O.: Erythropoietin and the regulation of erythropoiesis. University of Chicago Press. Chicago, 1970.
- GARBY, L.: Mechanism of utilization of oxygen. En «Problems of oxygen transport». *Acta. Anaesth. Scand.*, 15: 14, 1971.
- ARTUSON, G. y ROBERT, M.: Oxygen affinity of whole-blood in normal human subjects. *Acta. Anaesth. Scand. Suppl.*, 45: 22, 1971.
- ASTRUP, P., ENGEL, K., SEVERINGHAUS, J. W. y MUNSON, E.: The influence of temperature and pH on the dissociation curve of oxyhemoglobin of human blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 17: 515, 1965.
- BARTELS, H., BETKE, K., HILPERT, P., NIEMEYER, G. y RIEGEL, K.: Die sogenannte Standard O₂ Dissoziationskurve des gesunden erwachsenen Menschen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 272: 372, 1961.
- LENFANT, C., TORRANCE, J., WOODSON, R. y FINCH, C. A.: Adaptation to hypoxia. En «Red cell Metabolism and function». Ed. G. Brewer. New York. Plenum Press, 203, 1970.
- NAERAA, N.: The variation of blood oxygen dissociation curve in patients. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 16: 630, 1964.
- SEVERINGHAUS, J. W. y WISKOPF, R. B.: Lack of effect of high altitude on hemoglobin oxygen affinity. *J. Appl. Physiol.*, 33: 276, 1972.
- WINSLOW, R. M., SVENBERG, M. L., BERGER, R. L., SHRAGER, R. I., LUZZANA, M., SAMAJA, M. y ROSSI BERNARDI, L.: Oxygen equilibrium curve of normal human blood and its evaluation by Adair's equation. *J. Biol. Chem.*, 252: 2331, 1977.
- BENESCH, R. y BENESCH, R. E.: The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 26: 162, 1967.
- BENESCH, R. y BENESCH, R. E.: Intracellular organic phosphates as regulators of oxygen release by hemoglobin. *Nature. Lond.*, 221: 618, 1970.
- CHARNUTIN, A. y CURNISH, R. R.: Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 121: 96, 1967.

23. BELLINGHAN, A. J., DETTER, J. C. y LENFANT, C.: Regulatory mechanism of hemoglobin oxygen affinity in acidosis and alkalosis. *J. Clin. Invest.*, 50: 700, 1971.
24. BENESCH, R. y BENESCH, R. E.: Effects du 2,3 DPG sur la courbe de dissociation de l'hémoglobine humaine. *Nature*, 221: 618, 1969.
25. GARBY, L. y DE VERDIER, C. H.: Binding of 2,3 DPG to human hemoglobin A. Effects of pH, hemoglobin concentration and carbon dioxide. En «Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid base status». 236. P. Astrup y M. Rorth eds. Munksgaard, Copenhagen, 1972.
26. HLASTALA, M. P. y WOODSON, R. D.: Saturation dependency of the Böhr effect: interactions among H^+ , CO_2 , and DPG. *J. Appl. Physiol.*, 38: 1126, 1975.
27. KILMARTIN, J. V. y ROSSI-BERNARDI, L.: Inhibition of CO_2 combination and reduction of the Böhr effect in hemoglobin chemically modified at its amino groups. *Nature*, 222: 1243, 1969.
28. PERUTZ, M. F.: Stereochemistry of cooperative effects in hemoglobin. *Nature (London)*, 228, 726, 1970.
29. POYART, C. F., BURSAUX, E. y FREMINET, A.: Effect Böhr et affinité de l'hémoglobine pour l' O_2 . *Ann. Biol. Clin.*, 30: 213, 1972.
30. SCHAEFER, K. E., MESSIER, A. A. y MORGAN, C.: Displacement of oxygen dissociation curves and red cell cation exchange in chronic hypercapnia. *Resp. Physiol.*, 10: 299, 1970.
31. PERUTZ, M. F.: The Böhr effect and combination with organic phosphates. *Nature (London)*, 228: 734, 1970.
32. OTSUKA, J. y TAKASHI, K.: A plausible sequence of the conformational changes of Hemoglobin induced by oxygenation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 179: 706, 1977.
33. RAPOPORT, S. y GUEST, G. M.: The role of diphosphoglyceric acid in the electrolyte equilibrium of blood cells. *J. Biol. Chem.*, 131: 675, 1939.
34. GARCIA CARMONA, T., POLU, J. M., SAUNIER, C. y SADOUL, P.: Modifications sanguines transitoires de la glycolyse chez les malades hypercapniques ventilés artificiellement. *Bull. Europ. Physiopath. resp.*, 12: 199, 1976.
35. HARTEMANN, D., HORSKY, P., GARCIA CARMONA, T., HANNHART, B. y SAUNIER, C.: Intermédiaires de la glycolyse érythrocytaire au cours d'une hypercapnie de trois jours chez le chien. *Bull. europ. Physiopath. resp.*, 12: 185, 1976.
36. ABERMAN, A., CAVANILLES, J. M., TROTTER, J. y ERBECK, D., WEIL, M. H. y SHUBIN, H.: An equation for the oxygen hemoglobin dissociation curve. *J. Appl. Physiol.*, 35: 570, 1973.
37. ABERMAN, A., CAVANILLES, J. M., WEIL, M. H. y SHUBIN, H.: Blood P_{50} calculated from a single measurement of pH, PO_2 . *J. Appl. Physiol.*, 38: 171, 1975.
38. DUVELLEROY, M. A., BUCKLES, R. G., ROSENKAIMER, S., TUNG, C. y LAVER, M. B.: An oxyhemoglobin dissociation analyzer. *J. Appl. Physiol.*, 28: 227, 1970.
39. KIRK, B. W., RABER, M. B. y DUKE, K. R.: Simplified method for determining the P_{50} of blood. *J. Appl. Physiol.*, 38: 1140, 1975.
40. LICHTMAN, M. A., MURPHY, M. y POGAL, M.: The use of a single venous blood sample to assess oxygen binding to hemoglobin. *Brith J. Haematol.*, 32: 89, 1976.
41. LENFANT, C., WAYS, P., AUCUTT, C. y CRUZ, J.: Effect of chronic hypoxic hypoxia on the O_2 -Hb dissociation curve and respiratory gas transport in man. *Resp. Physiol.*, 7: 7, 1969.
42. LENFANT, C. y SULLIVAN, K.: Adaptation to high altitude. *New Engl. J. Med.*, 284: 298, 1971.
43. LENFANT, C., TORRANCE, J. D. y REYNAFARJE, C.: Shift of the O_2 -Hb dissociation curve at altitude: mechanism and effect. *J. Appl. Physiol.*, 30: 625, 1971.
44. RORTH, M. y NYGAARD, S. F.: Phosphate metabolism of the red cell during exposure to high altitude. En «Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid base status». 600. P. Astrup y M. Rorth eds. Munksgaard, Copenhagen, 1972.
45. SHAPELL, S. D., MURRAY, J. A., BELLINGHAN, A. J., WOODSON, R. D., DETTER, J. C. y LENFANT, C.: Adaptation to exercise: role of hemoglobin affinity for oxygen and 2, 3 diphosphoglycerate. *J. Appl. Physiol.*, 30: 827, 1971.
46. FAIRWEATHER, L. J., WALKER, J. y FLENLEY, D. C.: 2,3 Diphosphoglycerate concentrations and the dissociation of oxyhaemoglobin ventilatory failure. *Clin. Sci. Mol. Med.*, 47: 577, 1974.
47. TWEEDDALE, P. M., LEGGETT, R. J. E. y FLENLEY, D.: Oxygen affinity in vivo and in vitro in chronic ventilatory failure. *Clin. Sci. Mol. Med.*, 52: 277, 1977.
48. EDWARDS, M. J., NOVY, M. J., WALTERS, C. L. y WETCALFE, J.: Improved oxygen release: an adaptation of mature red cells to hypoxia. *J. Clin. Invest.*, 47: 1851, 1968.
49. EDWARDS, M. J., CANON, B., ALBERTSON, J. y BIGLEY, R. M.: Mean red cell age as determinant of blood oxygen affinity. *Nature (Lond)*, 230: 583, 1971.
50. VALERY, C. R., ZAROLIS, C. G. y FORTIER, N. L.: Peripheral red cell as a functional biopsy to determine tissue oxygen tension. En «Oxygen affinity of hemoglobin and red cell acid base status», 650. Astrup y M. Roth, eds. Munksgaard, Copenhagen, 1972.
51. AGOSTINI, A., STABILINI, M. D., BERASCONI, C. y GERLI, G. C.: The oxyhemoglobin dissociation curve in hypercapnic patients. *Amer. Heart J.*, 87: 670, 1974.
53. HJELM, M.: The content of 2,3 diphosphoglycerate and some other phospho-compounds in human erythrocyte from healthy adults and subjects with different types of anaemia. *Forsvarmedicin*, 5: 219, 1969.
52. WOODSON, R. D., TORRANCE, J. D., SHAPPEL, S. D. y LENFANT, C.: The effect of cardiac disease on hemoglobin-oxygen binding. *J. Clin. Invest.*, 49: 1349, 1970.
54. TORRANCE, J., JACOBS, P., RESTREPO, A., ESCHBACH, J., LENFANT, C. y FINCH, C. A.: Intraerythrocytic adaptation to anemia. *New Engl. J. Med.*, 283: 165, 1970.
55. ROUGHTON, F. J. W.: The equilibrium of carbon monoxide with human hemoglobin in whole blood. *Ann. N.Y. Aca. Sci.*, 174: 177, 1970.
56. VALTIS, D. J. y KENNEDY, A. C.: Defective gas transport function of stored red blood cells. *Lancet*, 1: 119, 1954.
57. DE VERDIER, C. H., GARBY, L. y HJELM, M.: Maintenance of a normal oxygen transport function of stored red cells. I Theoretical aspects. *Forsvarmedicin*, 5: 244, 1969.
58. HOGMAN, C. F., AKERBLUM, O. y DE VERDIER, C. H.: Optimal use of different storage procedures. *Bibl. haemat.*, 38: 175, 1971.
59. OSKI, F., SUGERMAN, H. y POLLOCK, T.: Experimentally induced in vivo alteration in the affinity of hemoglobin for oxygen. *Blood*, 38: 794, 1971.
60. GARBY, L.: Mechanism of utilization of oxygen. En «Problems of oxygen transport». *Act. Anaesth. Scand.*, 15: 11, 1971.
61. CHANCE, B., THURMAN, R. y GOSALVEZ, M.: Oxygen affinities of cellular respiration. *Forsvarmedicin*, 5: 235, 1969.
62. COHEN, G.: Le métabolisme cellulaire et sa régulation., 47. Herman. Edit. Paris, 1971.
63. GOLDSMITH, G. A.: The blood lactate-pyruvate relationship in various physiologic and pathologic states. *Amer. J. Sci.*, 215: 182, 1948.
64. HUCKABEE, W. E.: Control of concentration gradients of pyruvate and lactate across cell membranes in blood. *J. Appl. Physiol.*, 9: 163, 1956.
65. HUCKABEE, W. E.: Abnormal resting blood lactate; the significance of hyperlactacidemia in hospitalized patients: lactings blood acidosis. *Amer. J. Med.*, 30: 833, 1961.
66. AXELROD, D. R.: Organic acids and calcium in hyperventilation. *J. Appl. Physiol.*, 16: 709, 1961.
67. EICHENHOLZ, A., MULHAUSEN, R. O., ANDERSON, W. E. y MacDONALD, F. M.: Primary hypocapnia: a cause of metabolic acidosis. *J. Appl. Physiol.*, 17 (2): 283, 1962.
68. GRANHOLM, L. y SIESJO, B. K.: The effects of hypercapnia and hypocapnia upon the cerebrospinal fluid lactate and pyruvate concentrations and upon the lactate, pyruvate, ATP, ADP, phosphocreatine concentrations of cat brain tissue. *Acta Physiol. Scand.*, 75: 257, 1969.
69. ZBOROWSKA-SLIUS, D. T. y DOSSETTER, J. B.: Hyperlactatemia of hyperventilation. *J. Appl. Physiol.*, 22: 746, 1967.
70. ASSAN, R., DEROT, M., ROSSELIN, G., REYNIER, J. y TCHOBROUSIKI, G.: L'acidose lactique. *Presse méd.*, 73: 1269, 1965.