

Jefe: Profesor Juan A. Estada

## Influencia del hematócrito en el poder amortiguador de la sangre

Doctores M.<sup>a</sup> T. García Carmona, S. Ruiz de Andrés y J. A. Estada

### INTRODUCCION

Un gran número de compuestos, cuando se disuelven en agua, actúan como "buffer", debido a que sus moléculas contienen grupos que toman o ceden rápidamente iones  $H^+$ .

Un sistema amortiguador es tanto más eficaz cuanto más próximo está al valor de su pK, porque en esa zona de pH es donde existen cantidades equiparables de aceptores y donadores de  $H^+$ . La amortiguación es máxima cuando el pH es igual al pK.

La acción de un "buffer" puede describirse cuantitativamente en términos de su curva de titulación. Una curva así se construye disolviendo en  $H_2O$  una cantidad conocida de "buffer" y midiendo el pH de la solución; luego se añade una cantidad

conocida de ácido y se lee el pH nuevamente. Se repite este proceso hasta haber abarcado todo el poder regulador del "buffer".

El valor "buffer" de una solución es la cantidad de iones  $H^+$  que pueden añadirse o extraerse a una solución con una variación en una unidad de pH. La sangre se considera un tampón cuyos amortiguadores principales son la hemoglobina, y el sistema  $CO_3H_2 \rightleftharpoons CO_3H^-$ . Existen otros sistemas, los fosfatos albúminas, pero sus concentraciones son tan bajas que en la práctica se pueden desatender.

En el sistema tampón  $CO_3H_2 \rightleftharpoons CO_3H^- + H^+$  el aceptor de protones es el  $CO_3H^-$  y el donador el  $CO_3H_2$ .

La sangre es un sistema tampón cuyo pK es 6,10 y el pH normal 7,40. Con estos dos datos se pueden deducir la concentración del donador y del aceptor según la ecuación de Henderson-Hasselbalch.

$$pH = pK + \log \frac{[CO_3H^-]}{[CO_3H_2]}$$

$$7,40 = 6,10 + \log \frac{[CO_3H^-]}{[CO_3H_2]} \qquad 7,40 - 6,10 = \log \frac{[CO_3H^-]}{[CO_3H_2]}$$

$$1,3 = \log \frac{[CO_3H^-]}{[CO_3H_2]} \qquad \frac{20}{1} = \frac{[CO_3H^-]}{[CO_3H_2]}$$

Al presentar el aceptor y el donador de protones concentraciones tan distintas hace que el sistema tampón así considerado no sea muy bueno.

Pero las propiedades particulares del ácido carbónico, así como el sistema respiratorio, permiten un resultado mejor.

Cuando el ión  $CO_3H^-$  recibe  $H^+$  para formar  $CO_3H_2$ , todo el  $CO_3H_2$  neoformado se elimina de inmediato por aceleración de la respiración. Por eso el sistema bicarbonato-ácido carbónico es el amortiguador más importante en la defensa contra el exceso de  $H^+$ , siempre y cuando la respuesta respiratoria se produzca normalmente.

El poder amortiguador de la hemoglobina se debe a la histidina. Este es un aminoácido que forma parte de la proteína, y que en la cadena lateral tiene un grupo imidazol que puede formar una unión reversible con el ion  $H^+$  entre límites de pH de seis a ocho. El poder amortiguador es casi uniforme para todos los valores de pH sanguíneo compatibles con la vida.

En el presente trabajo hemos intentado estudiar el poder tampón de la sangre, variando los distintos términos de la ecuación de Henderson-Hasselbalch, viendo la relación que existe entre este poder tampón y la cantidad de hemoglobina, definida ésta por el hematócrito.

## MATERIAL Y METODOS

Las sangres que hemos utilizado han sido de enfermos o individuos normales

que llegaban a nuestro Servicio para hacerse un análisis de gases en sangre arterial. Se trata, pues, de sangre arterial extraída en condiciones anaeróbicas.

Estas sangres las hemos dividido en tres grupos:

Sangres con hematócitos superiores al 55 por 100, todas ellas procedentes de individuos afectados de cor pulmonale.

Sangres con hematócitos comprendidos entre 42 y 48 por 100.

Sangres con hematócitos inferiores al 34 por 100.

A cada una de estas sangres se les ha hecho un estudio de su poder tampón de la siguiente manera:

Se ha añadido sucesivamente a partes alícuotas de un mililitro de sangre, cantidades crecientes de ácido y bicarbonato, midiendo a continuación el pH. La adición, tanto de ácido como de bicarbonato, se ha llevado a cabo en condiciones anaeróbicas, partiendo de soluciones madre de ácido láctico y bicarbonato sódico en concentraciones tales que la adición no produjera la hemólisis de la sangre tratada.

La solución madre de ácido láctico es una solución 0,4 molar, preparada a partir de ácido láctico "Merck", de densidad 1,21, de la que se han medido en tubos de ensayo 0,01, 0,02 y 0,03 mililitros, equivalentes a la adición de 4, 8 y 12 miliequivalentes de ácido por litro de sangre.

La solución madre de bicarbonato sódico de la que partimos es la de las ampollas que normalmente se usan en clínica, cuya concentración es un molar, valoradas por el método de Casares. Igualmente que con el

ácido se han medido en tubos de ensayo 0,01, 0,02 y 0,03 mililitros, equivalentes a la adición de 10, 20 y 30 miliequivalentes de bicarbonato por litro de sangre.

Sobre los tubos en los que se midió el ácido o la base se añadió a continuación un mililitro de la sangre problema, medido anaerómicamente con pipeta de Van Slyke, sellando a continuación las siguientes determinaciones:

pH: En un "combianalysator", por el método potenciométrico con electrodo de vidrio.

pCO<sub>2</sub>: Por el método potenciométrico, con electrodo de vidrio recubierto de material termoplástico según indicación de Gerts, y modificado como electrodo estabilizado por U. Gleichmann.

Bicarbonato actual: Calculado según el diagrama de Davenport.

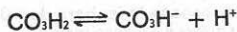
Bicarbonato estándar: Calculado por tonometrización a 38° C, con saturación completa de oxígeno y 40 mmHg de pCO<sub>2</sub>

## RESULTADOS

Los datos obtenidos para cada grupo de sangres estudiadas se han representado en un diagrama enfrentando variaciones de pH a variaciones de bicarbonato.

Estudiamos a continuación cuáles son los fenómenos que se producen, por la adición de ácido y de bicarbonato, en las sangres ensayadas.

En la sangre existe un equilibrio representado por la ecuación:

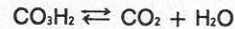


Aplicando la ley de acción de masas a este equilibrio se obtiene la constante K, de equilibrio.

$$K = \frac{[\text{CO}_3\text{H}^-] [\text{H}^+]}{[\text{CO}_2\text{H}_2]}$$

Al añadir ácido aumenta la concentración de iones H<sup>+</sup> y disminuye la de CO<sub>3</sub>H<sup>-</sup> por tanto, para que el valor del quebrado no varíe ha de aumentar el denominador. El aumento de ácido carbónico se traduce en

un aumento de la pCO<sub>2</sub> por desdoblamiento según la reacción:



y este aumento de la pCO<sub>2</sub> produce una disminución del pH. Son dos, pues, los factores que producen el descenso del pH.

1.º El aumento de la concentración de H<sup>+</sup> por la adición del ácido.

2.º El aumento de la concentración de H<sup>+</sup> como consecuencia de la elevación de la pCO<sub>2</sub>.

Al añadir bicarbonato, variamos de nuevo el equilibrio de la reacción anterior. Aumenta la concentración de CO<sub>3</sub>H<sup>-</sup>, disminuye la de H<sup>+</sup> y para que el equilibrio no varíe ha de aumentar también la concentración del denominador, aumentando consecuentemente la pCO<sub>2</sub>.

En este caso los dos factores que modifican el pH son contrarios.

El resultado final sobre el pH es la suma de ambos fenómenos. Al aumento producido por el bicarbonato hay que restarle el efecto que sobre el pH tiene el aumento de pCO<sub>2</sub>.

Es por esto por lo que no se obtiene una línea continua al unir los puntos correspondientes a la adición de ácido con los correspondientes a la adición de bicarbonato.

Para estudiar el poder tampón y sus relaciones con el hematócrito, hemos representado los resultados obtenidos de la adición de las cantidades antes mencionadas de ácido y base para cada sangre, agrupándolas según el hematócrito, comparando primero las gráficas de cada experimento con las de su grupo y luego comparando las líneas tampón representativas de cada grupo.

Para establecer una relación entre el hematócrito y el poder tampón de la sangre hemos representado gráficamente las líneas tampones medias representativas de cada grupo que aparecen en la figura 7, donde el punto O corresponde a las condiciones basales de la sangre, en la parte inferior se representa la disminución del pH en décimas frente a la disminución del bicarbonato en miliequivalentes por litro, como consecuencia de la adición de las cantidades mencionadas de ácido láctico.

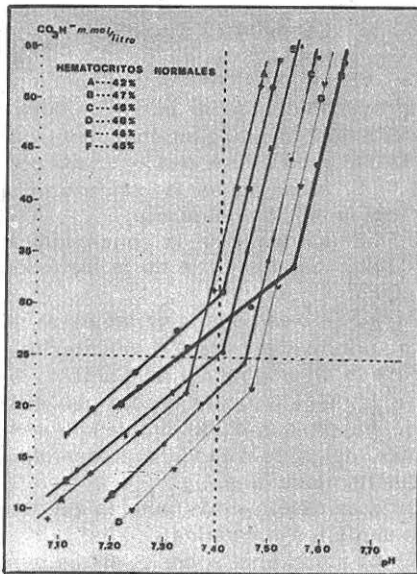


Figura 1.—En esta gráfica están representados los datos obtenidos en seis muestras de sangre con hematócritos. El punto en el cual convergen las líneas correspondientes a la adición de ácido y a la adición de bicarbonato es el de los valores basales de pH y bicarbonato actual de cada sangre. La parte inferior de la gráfica corresponde a la adición de ácido; la superior, a la adición de bicarbonato. La característica más importante de este grupo es su homogeneidad, que aparece plasmada en el paralelismo que existe entre las diversas rectas.

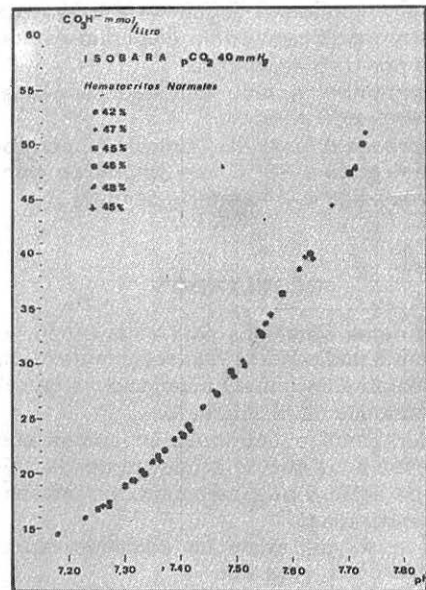
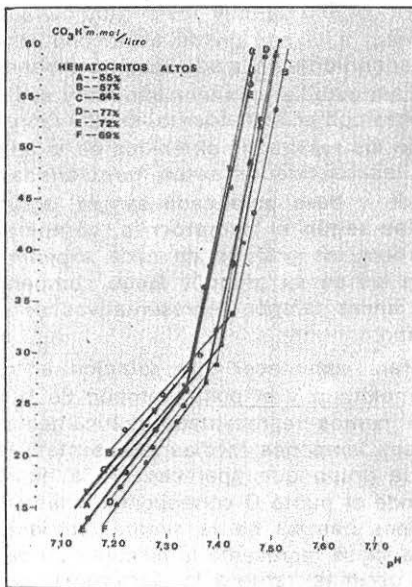


Figura 2.—Representa la isobara de 40 mmHg de pCO<sub>2</sub> de las sangres de este grupo.

Figura 3. Se representan en esta figura los datos correspondientes a las muestras de sangres con hematócritos altos. Este grupo no presenta la homogeneidad del anterior, ya que los valores del hematócrito varían en márgenes más amplios y por tanto no existe el claro paralelismo que existía en el anterior grupo.

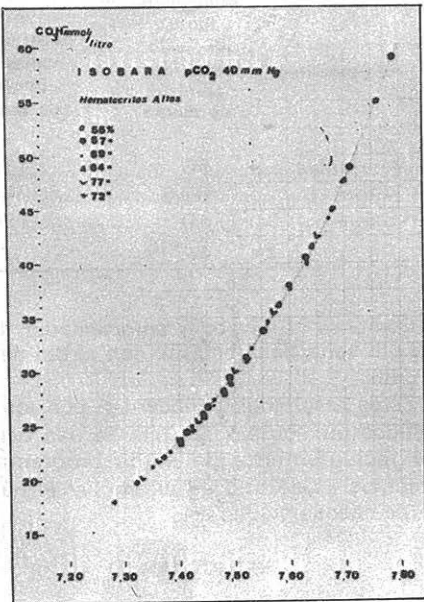


Figura 4.—Representa la isobara de 40 mmHg de pCO<sub>2</sub> de las sangres de este grupo.

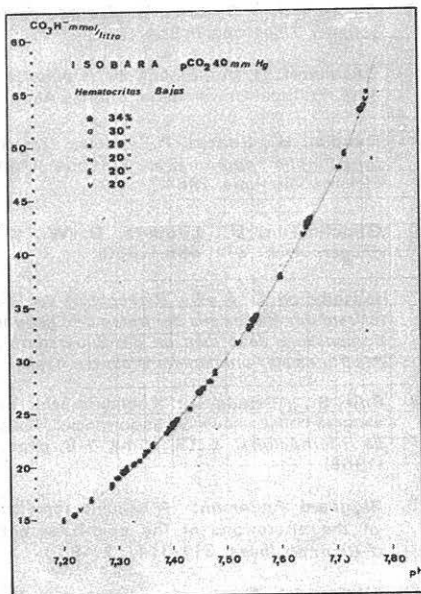


Figura 6.—Representa la isobara de 40 mmHg de pCO<sub>2</sub> de las sangres de este grupo.

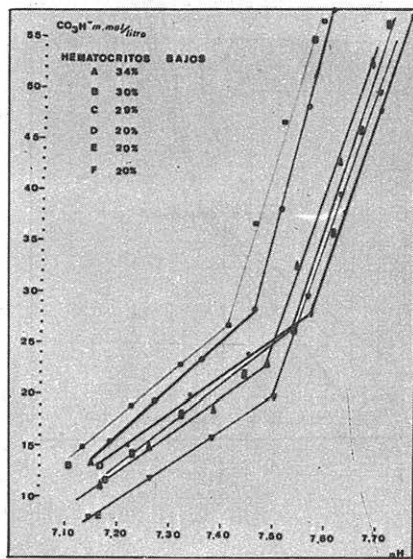


Figura 5.—Se representan en esta figura los datos correspondientes a las muestras de sangres con hematocritos bajos. Este grupo, al igual que el anterior, no presenta la homogeneidad del primero, pues los hematocritos varían del 34 al 20 por 100, encontrándose un claro paralelismo entre las gráficas correspondientes a hematocritos próximos como son las líneas D, E, F, y las A, B, C.

En la parte superior se representa el aumento del pH en décimas frente al aumento del bicarbonato en miliequivalentes por litro. Este aumento del bicarbonato se consigue mediante la adición de las cantidades mencionadas de bicarbonato sódico.

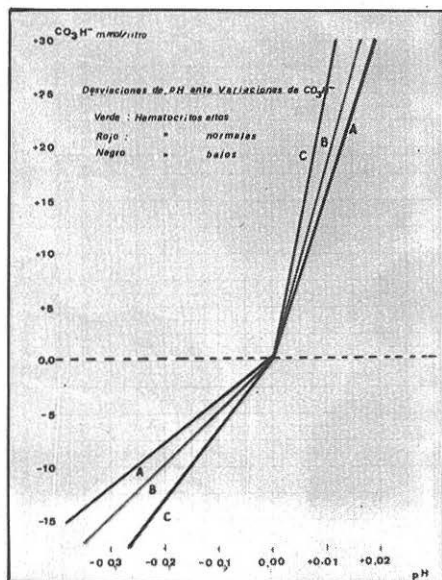


Figura 7.

Verde = C = hematócritos altos.  
 Rojo = B = hematócritos normales.  
 Negro = A = hematócritos bajos.

Calculado el valor de la pendiente de estas líneas encontramos los siguientes resultados.

Adición	Hematócritos	Pendientes
Acido	Normales	1
Acido	Altos	1,26
Acido	Bajos	0,78
Bicarbonato	Normales	3,80
Bicarbonato	Altos	4,70
Bicarbonato	Bajos	3

Traduciendo el valor de estas pendientes a valores de poder tampón, se obtienen los siguientes resultados:

Hematócritos	Miliequivalentes de ácido añadido por litro de sangre	Miliequivalentes de bicarbonato añadido por litro de sangre
Normales .....	50 .....	181
Altos .....	67,5 .....	240
Bajos .....	40 .....	150

Como se ve, el poder amortiguador de la sangre varía directamente con el del hematócrito.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos por los autores que se han ocupado recientemente de estos problemas, y creemos es de utilidad el ampliar el número de casos estudiados.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Bartels, H., y cols.: *Lungenfunktionsprüfungen*. Springer-Verlag. Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1959.
2. Bland, J. H.: *Metabolismo del agua y de los electrolitos en clínica*. Editorial Interamericana, S. A., Méjico, 1965.
3. Casares, J., y Casares, R.: *Tratado de análisis químico*, 7.ª edición, II, 264.
4. Davenport, H. W.: *El ABC de la química ácido-base*. Editorial Universitaria, Buenos Aires, 1966.
5. Denolin, H.; Sadoul, P., y cols.: *L'exploration fonctionnelle pulmonaire*. Editions Medicales Flammarion, París, 1964.
6. Gleichmann, U.; Lübbers, D. W., y cols.: *Pflügers Arch.*, 271, 456 (1960).
7. Hasselbalch, D. A.: *Die Berechnung der Wasserstoffzahl des Blutes aus der freien und gebundenen Kohlensäure desselben un die Sauerstoffbindung des Blutes als Funktion der Wassstoffzahl*.
8. Ruiz, S., y Estada, J.: "Equilibrio ácido-base en sangres conservadas. Su importancia". *Folia Clinica Internacional*, t. 18, núms. 7-8, págs. 3-10 (1968).
9. Siggaard Andersen: "A graphic representation of the alterations of the acid-base balance". *J. Clin. Lab. Inves.*, 311-314, 12, 1960.
10. Ulmer, W. T., y cols.: *Die Lungenfunktion*. Georg Thieme-Verlag. Stuttgar, 1970.