

Afinidad de la hemoglobina por el oxígeno en pacientes urémicos. Efectos de la hemodialisis.

P. GOMEZ-FERNANDEZ, A. SANZ GUAJARDO, J. CONESA VICENTE,
T. GARCIA CARMONA,* T. PEREZ PIÑO**, E. QUEVEDO MORALES,**
O. ORTEGA, R. SELGAS y L. SANCHEZ SICILIA.

Servicio de Nefrología. C. S. La Paz. Universidad Autónoma. Madrid.

** Servicio de Hematología. C. S. La Paz. Madrid.

* Servicio de Respiratorio. Clínica Puerta de Hierro. Madrid.

RESUMEN

Entre los factores implicados en el aporte de Oxígeno a los tejidos, la afinidad de la Hemoglobina por el Oxígeno juega un papel importante. En los enfermos urémicos este factor adquiere, si cabe, más relevancia dado que la anemia de la uremia disminuye la capacidad de transporte de Oxígeno a los tejidos.

Nosotros hemos estudiado la afinidad de la Hemoglobina por el Oxígeno en 11 enfermos urémicos, mediante la determinación de la P_{50} medida a un pH de 7.40 (P_{50} «in vitro») y al pH presente (P_{50} «in vivo») analizando además, los factores que inciden sobre la misma: 2,3-DPG, PCO_2 y la concentración de H^+ . El estudio se realizó antes de una sesión de hemodiálisis y a los 240 minutos de iniciada la misma, comparando dos membranas diferentes: Cuprofán y Poliacrilonitrilo (PAN).

Antes de la hemodiálisis los enfermos presentaron un aumento de la P_{50} «in vitro» condicionado por valores elevados de 2,3-DPG, cuya cuantía era significativamente superior en la membrana de PAN. Tras la hemodiálisis, no se observaron modificaciones del 2,3-DPG. La P_{50} «in vitro» aumentó debido a factores no bien definidos, mientras que la P_{50} «in vivo» disminuyó significativamente por la alcalosis dialítica (efecto Bohr). Estos cambios eran similares en las dos membranas. Los valores de Acido Láctico, Acido Pirúvico y su relación no experimentaron cambios significativos en el transcurso de la diálisis aunque la gran dispersión de estos valores dificulta su interpretación.

De nuestros resultados se concluye que los pacientes urémicos presentan antes de la hemodiálisis, una disminución de la afinidad de la Hemoglobina por el Oxígeno. Por otra parte, nuestros hallazgos sugieren que dados los cambios opuestos de la P_{50} «in vitro» y la P_{50} «in vivo» observados en el transcurso de la hemodiálisis, es probable que el aumento de la afinidad de la Hemoglobina producida por la alcalosis dialítica sea atenuado por el aumento de la P_{50} «in vitro».

Palabras clave: Afinidad de Hemoglobina, P_{50} , 2,3-DPG, hemodiálisis.

SUMMARY

Oxygen delivery to peripheral tissues in chronic renal failure patients is distorted by the presence of anemia, changes in the hemoglobin oxygen affinity, and others induced by the uremic state.

We have studied hemoglobin oxygen affinity in eleven patients on regular hemodialysis (RH) by means of the P_{50} in vivo and in vitro, 2,3, diphosphoglycerate (2,3, DPG), pCO_2 and H^+ concentration. Blood samples were drawn from the arterial side of the forearm arteriovenous fistula in every patient before (Otime)

and after four hours RH (240 time). Two different types of membranes were used (cuprophane and polyacrylonitrile -PAN) on every patient.

P_{50} in vitro and 2,3, DPG were raised above normal in all patients before RH, this finding being more evident when PAN was in use. After RH on both membranes 2,3,DPG was unchanged, P_{50} in vitro increased, but P_{50} in vivo was significantly decreased. This later effect can be related to alcalosis induced by RH (Bohr's effect), but the evident increase of P_{50} in vitro, that is more difficult to explain, represents a simultaneous and opposite effect. Lactic and pyruvic acid values and lactic/pyruvic ratio showed great dispersion, even if mean values were not changed by RH.

Decreased hemoglobin oxygen affinity in uremic patients is a compensatory mechanism to provide adequate peripheral tissue oxygenation.

RH induces higher oxygen affinity by the hemoglobin, but also increases P_{50} in vitro, which partially counteracts Bohr's effect, by a not well known mechanism.

Key words: Oxygen-hemoglobin affinity, P_{50} , 2-3 DPG, hemodialysis.

INTRODUCCION

El aporte de Oxígeno a los tejidos depende de varios factores: Gasto cardíaco, PO_2 , concentración de Hemoglobina (Hb) y saturación de Oxígeno de la Hb.

La P_{50} , la presión parcial de Oxígeno a la que la Hb está saturada al 50 %, es una medida de la afinidad de la Hb por el Oxígeno que está condicionada por varios factores: temperatura, PCO_2 , H^+ , y 2,3-Difosfoglicérico (2,3-DPG). El incremento de éstos produce un aumento de la P_{50} , desviación de la curva de disociación de la Oxihemoglobina hacia la derecha, menor afinidad de la Hb por el Oxígeno y por tanto mayor suelta de Oxígeno a los tejidos mientras que la disminución de estos factores induce cambios opuestos¹.

La anemia de la insuficiencia renal y por otra parte, la miocardiopatía urémica de especificidad todavía discutida, podrían comprometer el aporte tisular de Oxígeno a los tejidos en ausencia de mecanismo compensadores. Varios autores^{2,3} han demostrado un incremento del 2,3-DPG en pacientes urémicos y una disminución de la afinidad de la Hb por el Oxígeno que compensaría la reducida capacidad de transporte de Oxígeno de estos enfermos. Por otra parte, durante la hemodiálisis (HD) se producen cambios del equilibrio ácido-base que pueden modificar la P_{50} . Se ha objetivado una disminución de la P_{50} tras la HD debido al incremento del pH⁴. Este hecho asociado a la hipoxemia de la HD⁵ podría condicionar, al menos en algunos enfermos, hipoxia tisular y alguno de los síntomas observados en la HD.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, en este trabajo nos propusimos valorar la afinidad de la Hb por el Oxígeno y sus factores condicionantes en 11 pacientes urémicos en tratamiento periódico con

HD analizando las variaciones producidas después de una HD y comparando dos membranas diferentes: Cuprofán y Poliacrilonitrilo.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron once enfermos con insuficiencia renal terminal en tratamiento con HD periódica. El tiempo de estancia en HD oscilaba entre 5 y 15 meses. La investigación se realizó en dos momentos: al inicio de la HD y a los 240 minutos. Para propósitos del estudio se utilizó inicialmente un dializador plano de membrana de Cuprofan con un área efectiva del 1 m² Gambro Lundia, dializador que venía siendo utilizado habitualmente en los pacientes. Posteriormente y en cada enfermo, el citado dializador fue cambiado por otro plano con membrana de Poliacrilonitrilo (PAN) (HP AN69, Hospal) que fue utilizado durante una semana (3 HD) antes de repetir el estudio. En ambos casos el líquido de diálisis contenía Acetado (38 mEq/l) como agente alcalinizante. Como único tratamiento los enfermos recibían complejos polivitamínicos e Hidróxido de aluminio. Todos los enfermos tenían una fistula radiocefálica como acceso vascular. La sangre era extraída en condiciones anaerobias, a 37°C y rápidamente analizada para PCO_2 , pH y Bicarbonato utilizando un aparato de gases (IL modelo 403) previamente equilibrado. La concentración de H^+ se obtuvo a partir del pH utilizando fórmulas descritas⁶. La saturación de la Hb y la carboxihemoglobina fueron medidas mediante un CO-oxímetro IL modelo 182 y la P_{50} «in vitro» fue determinada en sangre tonometrizada utilizando el método previamente descrito por uno de nosotros (TGG)⁷. La P_{50} «in vivo» fue calculada según la fórmula de Lichtman⁸:

$$P_{50} \text{ in vivo} = \text{antilog. } [\log P_{50} \text{ in vitro} + 0.48 \\ (7.4 - \text{pH}) + 0.0013 \times \text{exc. de base}]$$

Las determinaciones de 2,3-DPG, Ac. Láctico y Pirúvico (los dos últimos realizados solo en 8 enfermos) se hicieron por métodos enzimáticos utilizando los equipos de reactivos de Boehringer Mannheim, Barcelona (n.º cat. = 148334, 149993 y 124982 respectivamente). Para el 2,3-DPG las muestras de sangre se desproteinizaron e inmediatamente después de la toma con Ac. Perclórico 0.6 N muy

frío. El Ac. Láctico se determinó en plasma obtenido por centrifugación de la sangre anticoagulada con una mezcla de Fluoruro Sódico y EDTA. Para la determinación del Ac. Pirúvico, la sangre fue desproteinizada en el momento de la extracción con Ac. Perclórico 1 N.

La concentración de Hb se determinó por el método de la Cianmetahemoglobina.

Diez personas, aparentemente sanas, sirvieron de control para los valores de P₅₀, 2,3-DPG, Ac. Láctico y Ac. Pirúvico.

Como método estadístico se utilizó la t de Student de datos apareados para el análisis comparativo de los cambios secuenciales con las dos membranas y la t de Student de datos no apareados para la comparación con la serie control. Los valores son expresados como X ± SD.

RESULTADOS

La edad media de los enfermos era de 35.8 ± 8

años mientras que la de los controles era de 33.9 ± 7.9 años. La distribución por sexos era similar. Dado que la concentración de Hb era superponible en las dos membranas y no experimentó modificaciones significativas en el transcurso de la HD, se expresa para cada paciente la media de cuatro determinaciones. Como era de esperar, la concentración de Hb de los pacientes era significativamente inferior a la de los controles (6.97 ± 0.73 frente a 14.9 ± 1.1 g%) (p < 0.001).

TIEMPO «0»:

En la tabla I y II se reflejan los valores individuales y medios de los enfermos antes de la HD así como los valores medios de los controles.

Existía un aumento del 2,3 DPG (Cuprofán: 6.74 ± 1.57, PAN: 9.13 ± 2.18) ambos significativamente superiores a los controles (p < 0.0001). La diferencia del 2,3-DPG entre las dos membranas también al-

**TABLA I
VALORES INDIVIDUALES Y MEDIOS DE LOS PACIENTES CON MEMBRANA DE CUPROFAN (A) Y DE PAN (B) Y VALORES MEDIOS DE CONTROLES.**

| Paciente n.º | Hb g. % | P50 mm. Hg | | 2,3-DPG μ mMoles/l. de células | |
|------------------|---------|------------|----------|------------------------------------|-------|
| | | A | B | A | B |
| 1 | 6.6 | 25.64 | 26.06 | 5.07 | 7.01 |
| 2 | 7.3 | 25.12 | 25.60 | 5.07 | 10.78 |
| 3 | 7.50 | 24.64 | 25.10 | 5.27 | 7.57 |
| 4 | 6.50 | 25.78 | 25.01 | 7.05 | 13.58 |
| 5 | 6.70 | 26.02 | 24.50 | 6.81 | 9.55 |
| 6 | 6.60 | 26.85 | 26.90 | 10.61 | 10.72 |
| 7 | 7.90 | 26.60 | 26.80 | 7.27 | 9.96 |
| 8 | 7.20 | 25.89 | 27.19 | 6.66 | 13.48 |
| 9 | 8.30 | 25.14 | 25.57 | 7.81 | 5.43 |
| 10 | 6.20 | 25.72 | 25.73 | 6.54 | 6.78 |
| 11 | 5.90 | 25.08 | 24.78 | 5.98 | 5.62 |
| X | 6.97 | 25.67 | 25.75 | 6.74 p 0.02 | 9.13 |
| SD | 0.73 | 0.66 | 0.89 | 1.57 | 2.88 |
| <u>Controles</u> | | p < 0.001 | p < 0.02 | p < 0.001 | |
| X | 14.90 | 25.08 | | 3.78 | |
| SD | 1.10 | 0.62 | | 0.89 | |

**TABLA II
VALORES INDIVIDUALES Y MEDIOS DE LOS PACIENTES CON MEMBRANA DE CUPROFAN (A) Y DE PAN (B) Y VALORES MEDIOS DE CONTROLES**

| Paciente n.º | Ac. Láctico mg. % | | Ac. Pirúvico mg. % | | Ac. Láctico/Ac. Pirúvico | | |
|------------------|-------------------|-------|--------------------|------|--------------------------|-------|--|
| | A | B | A | B | A | B | |
| 1 | 7.8 | 10.75 | 0.26 | 0.13 | 30 | 82 | |
| 2 | 4.41 | 4.61 | 0.19 | 0.34 | 23 | 13.05 | |
| 3 | 3.38 | 4.86 | 0.26 | 0.60 | 13 | 8.1 | |
| 4 | 26.26 | 26.06 | 0.43 | 0.60 | 61 | 43.4 | |
| 5 | 16.64 | 13.10 | 0.22 | 0.26 | 75.6 | 50 | |
| 6 | 3.97 | 6.92 | 0.43 | 0.45 | 9.23 | 15.37 | |
| 7 | 9.27 | 6.62 | 0.52 | 0.34 | 17.82 | 19.4 | |
| 8 | 10.75 | 10.90 | 0.53 | 0.35 | 20.2 | 31.14 | |
| X | 10.31 | 10.47 | 0.35 | 0.38 | 31.23 | 32.86 | |
| SD | 7.79 | 7 | 0.13 | 0.16 | 24 | 24.77 | |
| <u>Controles</u> | | NS | NS | NS | | | |
| X | 7.57 | | 0.46 | | 16.58 | | |
| SD | 3.03 | | 0.13 | | 4.63 | | |

canzaba significación estadística ($p < 0.025$). La P_{50} a un pH de 7.40 (P_{50} «in vitro») era de 25.67 ± 0.66 en el Cuprofan y de 25.75 ± 0.89 en el PAN mientras que en los controles era de 25.08 ± 0.62 mm. Hg ($p < 0.02$).

La concentración de H^+ era de 45 ± 6 nEq/l con el Cuprofan y de 52 ± 3 nEq/l con el PAN mientras que la PCO_2 era de 37.3 ± 5.4 y 40 ± 7 mm. Hg. respectivamente (valores no expresados en las tablas).

Los niveles de Ac. Láctico, Ac. Pirúvico y la relación láctico-pirúvico no eran significativamente diferentes de los controles. Estos parámetros presentaban gran dispersión no existiendo diferencias significativas entre las dos membranas.

TIEMPO «240»:

Tras los 240 minutos la concentración de H^+ descendió significativamente con las dos membranas pasando de 45 ± 6 a 34.6 ± 4.7 nEq/l con el Cuprofan ($p < 0.001$) y de 52 ± 3 a 38.5 ± 5 nEq/l con el PAN ($p < 0.001$). La PCO_2 también descendió significativamente a valores de 32.8 ± 3 mm. Hg. con el Cuprofan ($p < 0.02$) y a 34 ± 6 mm. Hg. ($p < 0.002$) con el PAN (valores no reflejados en las tablas).

Mientras que el 2,3-DPG no experimentó cambios significativos, la P_{50} «in vitro» incrementó significativamente tanto con el Cuprofan ($p < 0.001$) (figura 1) como con el PAN ($p < 0.001$) (figura 2).

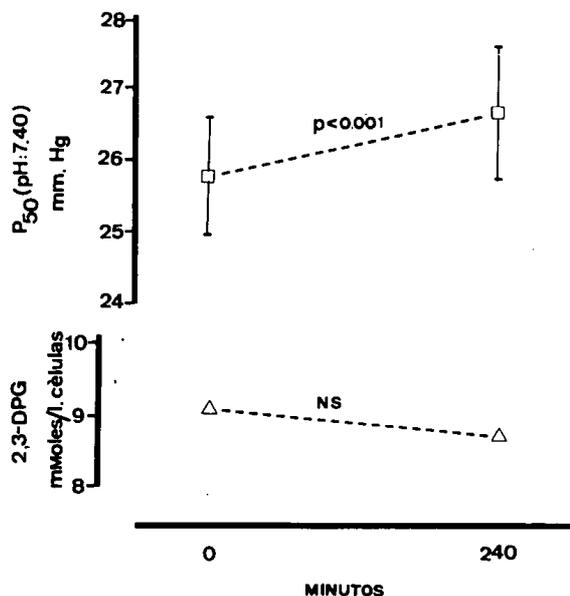


Fig. 2.—Cambios de la P_{50} «in vitro» (pH: 7.40) y del 2,3-Difosfoglicérico en la membrana de Poliacrilonitrilo (PAN).

Cuando se analizó el comportamiento de la P_{50} corregida al pH de cada paciente (P_{50} «in vivo») se observó una disminución desde los valores iniciales de 27.12 ± 1.64 a 24.86 ± 1.19 mm. Hg. con el Cuprofan ($p < 0.0025$) y de 28.3 ± 2.3 a 26.1 ± 1.43 mm. Hg. con el PAN ($p < 0.005$) (figura 3).

El Ac. Láctico, Pirúvico y su relación incrementaron ligeramente sin que este cambio alcanzase signifi-

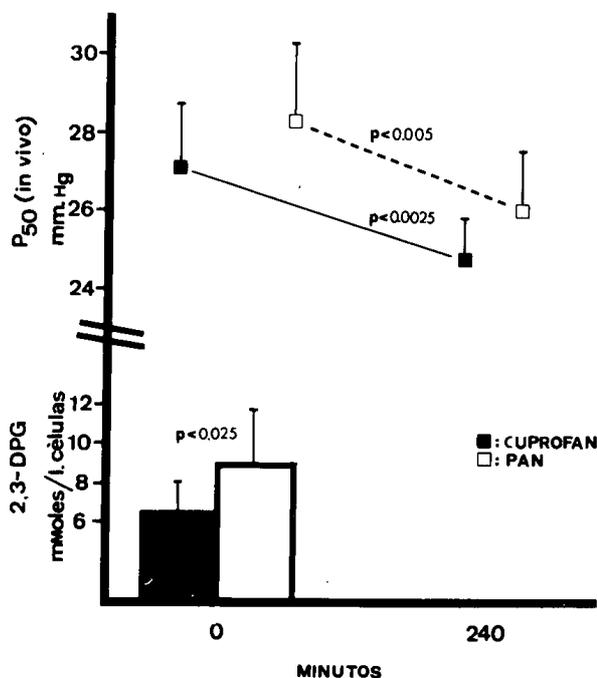


Fig. 3.—Variaciones de la P_{50} «in vivo» y niveles prediálisis de 2,3-Difosfoglicérico (2,3 DPG) en el Cuprofan y en el Poliacrilonitrilo (PAN).

ficación estadística con ninguna de las dos membranas (figura 4).

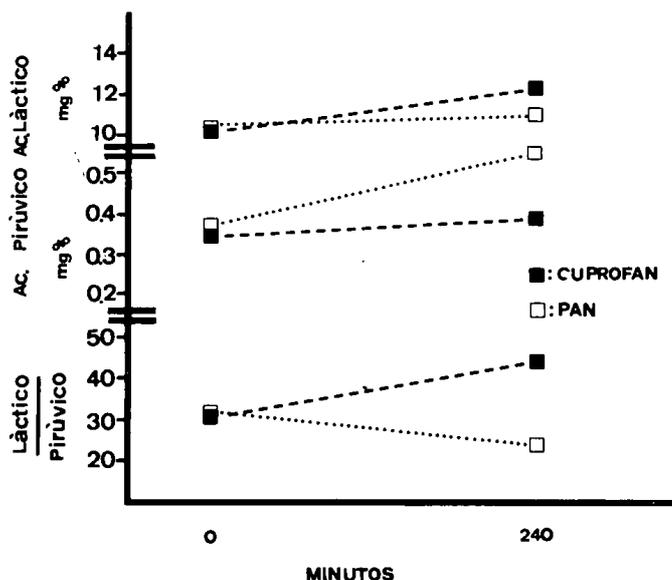


Fig. 4.—Modificaciones del Ac. Láctico, Pirúvico y su relación en el Cuprofan y en el Poliacrilonitrilo (PAN).

DISCUSION

La cantidad de Oxígeno aportado a los tejidos a cualquier PO_2 , gasto cardíaco y concentración de Hb, depende de la afinidad de ésta por el Oxígeno, afinidad que es medida por la P_{50} ; ésta a su vez está condicionada por varios factores (figura 5) cuyo análisis constituye el motivo de este trabajo.

Nuestros enfermos presentan antes de la HD, una elevación de la P_{50} «in vitro» comparados con una

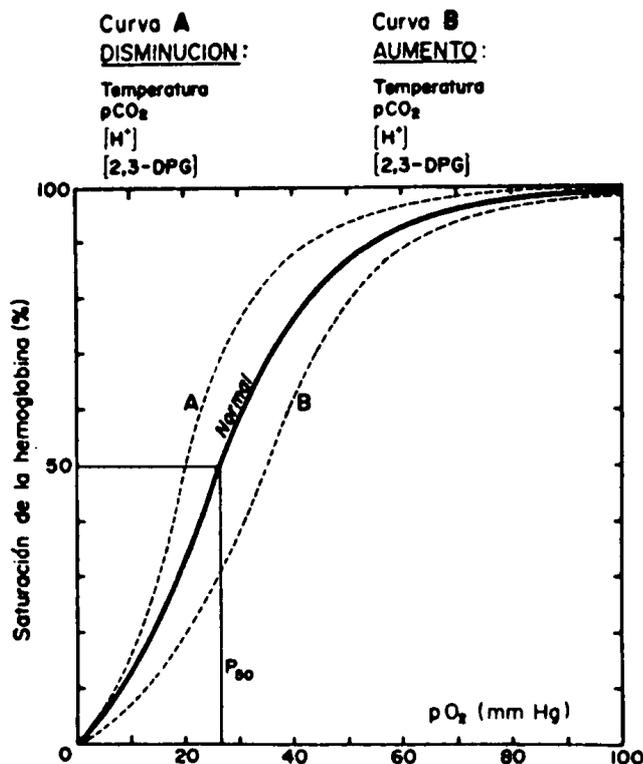


Fig. 5.— Curva de disociación de la Oxihemoglobina y factores que la modifican.

población sana. Los niveles de 2,3-DPG eran significativamente más altos en los enfermos urémicos, hecho ya referido por otros autores ^{2, 3, 4}. Las causas de este incremento pueden ser varias; la propia anemia puede producir aumento del 2,3-DPG intrarritrociario. En estudios realizados en pacientes con diversos tipos de anemia se ha demostrado que la disminución de la Hb induce un aumento del 2,3-DPG ⁹. Otro de los condicionamientos de los niveles de 2,3-DPG lo constituye el Fósforo inorgánico. Algunos autores ^{2, 10} han demostrado una correlación entre el Fósforo y el 2,3-DPG. Aunque en nuestro estudio, desgraciadamente, no disponemos de valores de Fósforo, es lógico pensar que pese al tratamiento con Hidróxido de Aluminio, los pacientes urémicos tienen niveles de fosforemia superiores a la de los controles, ninguno de los cuales presentaba insuficiencia renal. Además de la anemia y del Fósforo, las variaciones del pH también producen cambios en los niveles de 2,3-DPG; la acidosis mantenida reduce la tasa de glicolisis del hematíe por lo que disminuye el 2,3-DPG ¹. Dado que nuestros enfermos presentaban una ligera elevación de la concentración de H⁺, cabe suponer que el efecto de la anemia y las posibles alteraciones del fósforo superaban el efecto depresor que la acidosis tiene sobre el 2,3-DPG o bien que la duración de la acidosis no es suficiente para producir cambios evidentes en el 2,3-DPG.

No podemos explicar los mayores niveles de 2,3-DPG con la membrana de PAN ya que la concentración de Hb era similar con las dos membranas y en todo caso, la concentración de Hb era mayor con

el PAN; como no se modificó la dosis de Hidróxido de Aluminio, existe la posibilidad de que el manejo de Fósforo y los niveles de fosforemia sean diferentes en las dos membranas.

Otros factores que condicionan los valores de P₅₀ son la PCO₂ y la concentración de H⁺ ^{1, 11}. Como los valores de PCO₂ eran normales con las dos membranas y teniendo en cuenta que la P₅₀ «in vitro» (medida a un pH de 7.40) excluye el efecto de la acidosis (efecto Bohr), parece claro que el incremento la P₅₀ que presentaban los enfermos urémicos antes de la HD es debido al aumento del 2,3-DPG. Tras 240 minutos de HD nosotros no objetivamos cambios significativos en los valores de 2,3-DPG con ninguna de las dos membranas. En este aspecto nuestros resultados coinciden con los de otros autores ^{4, 12, 13}, que comprobaron que tanto el 2,3-DPG como otros nucleótidos (ATP, AMP) no se modificaban después de la HD pese a producirse un descenso de los niveles de Fósforo. Por el contrario, otros ¹⁴ comprobaron un descenso del 2,3-DPG tras la HD que era paralelo a la disminución del Fósforo. La divergencia de estos resultados quizá radique en los efectos opuestos que las modificaciones del Fósforo y los cambios de pH tienen sobre el 2,3-DPG y en el tiempo necesario para que los cambios de la glicolisis del hematíe inducidos por estos factores, repercutan sobre los niveles de 2,3-DPG; por una parte la alcalosis que se produce después de la HD aumentaría el 2,3-DPG mientras que la disminución del Fósforo tendría el efecto opuesto; es de señalar también que en uno de estos estudios ¹⁴ la duración de la diálisis era de 6 horas mientras que en los otros ^{12, 13, 14} era de 5 horas y este hecho podría condicionar los diferentes resultados.

Pese a la ausencia de cambios en el 2,3-DPG, la P₅₀ a pH de 7.40, aumentó de forma significativa tras la HD y ello, pese al descenso significativo de la PCO₂ que, en todo caso, debería disminuir la P₅₀ «in vitro». No encontramos ninguna explicación para este hallazgo que también fue observado por otros. Algunos autores ³ han objetivado un aumento no significativo de la P₅₀ «in vitro» después de la HD, mientras que en otros estudios ^{14, 13} este incremento alcanza significación estadística. Ninguno de los autores explica estas variaciones.

Cuando analizamos las variaciones de la P₅₀ teniendo en cuenta los cambios de pH (P₅₀ «in vivo»), observamos un descenso significativo de la misma como ha sido señalado por otros ^{3, 13, 15}. Este aumento de la afinidad de la Hb por el Oxígeno estaría condicionado por la disminución de la concentración de H⁺ (efecto Bohr) cuyo efecto sería rápido en contraposición a los cambios del 2,3-DPG producidos por las variaciones del pH que requieren cierto tiempo para hacerse evidentes. Se ha postulado que esta disminución de la P₅₀ producida por la alcalosis

de la diálisis podría inducir hipoxia tisular³.

No obstante, hay estudios¹³ que demuestran que la disminución de la P_{50} no tiene efectos deletereos sobre el aporte y el consumo de Oxígeno durante la HD; es posible que, además de mecanismos de compensación como el incremento del gasto cardíaco encontrado por los autores, el aumento de la afinidad de la Hb producido por la alcalosis y reflejado por la disminución de la P_{50} «in vivo», sea atenuado por la disminución de la afinidad reflejada por el incremento la P_{50} «in vitro» inducido por factores no definidos.

Algunos han utilizado el incremento del Ac. Láctico como índice de hipoxia tisular¹⁶ y otros¹⁵ han encontrado antes de la HD, un aumento del Ac. Láctico intraeritrocitario con Ac. Pirúvico normal e incremento de la relación Láctico-Pirúvico; después de la HD se producía una disminución no significativa del Ac. Láctico, un aumento significativo del Ac. Pirúvico y un descenso significativo de la relación Láctico-Pirúvico, considerando los autores que estos cambios eran condicionados por las pérdidas de Ac. Láctico en la diálisis y por un aumento de la glicolisis producido por la alcalosis dialítica.

Aunque nosotros no evidenciamos diferencias significativas de estos parámetros entre los enfermos urémicos y los controles ni cambios significativos tras la HD, la gran dispersión de nuestros valores nos disuade de dar explicación alguna de estos hallazgos.

De nuestros resultados se deriva que los enfermos urémicos en HD presentan antes de la misma, una disminución de la afinidad de la Hb por el Oxígeno reflejada por un aumento de la P_{50} «in vitro» producido por el incremento del 2,3-DPG, incremento que es más importante en los enfermos dializados con membrana de PAN. Tras 240 minutos de HD no se observan cambios del 2,3-DPG pese a lo cual, la P_{50} «in vitro» aumenta mientras que la P_{50} «in vivo» disminuye por la alcalosis dialítica. Es probable que debido a estos cambios opuestos, el aumento de la afinidad de la Hb durante la HD producido por el efecto Bohr y por tanto la menor suelta de Oxígeno a los tejidos sea atenuada por el incremento de la

P_{50} «in vitro». Son necesarios posteriores estudios que analicen cambios del gasto cardíaco, presión venosa central de Oxígeno, diferencia arteriovenosa de Oxígeno además de la P_{50} para valorar la repercusión que las modificaciones producidas por la HD en la afinidad de la Hb tienen sobre la oxigenación tisular.

En períodos interdialíticos el aumento de la P_{50} puede ser un mecanismo de defensa para los enfermos urémicos en los que la anemia puede reducir la capacidad de transporte de Oxígeno a los tejidos.

BIBLIOGRAFIA

1. THOMAS, H. M.; LEFRANK, S. S.; IRWIN, R. S.; FRITTS, H. W.; CALDWELL, P. R. B.: «The oxyhemoglobin dissociation curve in health and disease. Role of 2,3-Diphosphoglycerate». *Am. J. Med.* 57: 331-348, 1974.
2. BLUMBERG, A.; MARTI, H. R.: «Adaptation to anemia by decreased oxygen affinity of hemoglobin in patients on dialysis». *Kidney Int.* 1: 263-270, 1972.
3. EGGER U.; BLUMBERG, A.; MARTI, H. R.: «Acid-base balance and oxygen affinity of hemoglobin in patients on maintenance dialysis». *Kidney Int.* 1: 70-75, 1973.
4. TORRANCE, J. D.; MILNE, F. J.; HURWITZ, S.; ZWI, S.; RABKIN, R.: «Changes in oxygen delivery during hemodialysis». *Clin. Nephrol.* 3: 54-59, 1975.
5. ALJAMA, P.; SERRANO, M.; GONZALEZ-BURDIEL, L.; MORENO, E.; FERNANDEZ, J.; GOMEZ, J.; PEREZ, R.; MARTIN-MALO, A.; SANZ, R.: «Hipoxemia y leucopenia. Efectos independientes de la hemodiálisis convencional». *Nefrología* 1: 35-40, 1981.
6. FAGAN, T. J.: «Estimation of Hydrogen ion concentration». *N. Engl. J. Med.* 288: 915-915, 1973.
7. GARCIA CARMONA, T.; DOMINGUEZ DE VILLOTA, E.; MOSQUERA GONZALEZ, M.; MUEDRA LOPEZ, A.; RUIZ DE ANDRES, S.; ESTADA GIRAUTA, J.: «Comparación entre los valores de P_{50} basados en saturaciones calculadas a partir de los contenidos de oxígeno (Van Slyke) y en saturaciones medidas ópticamente (Co-oxímetro)». *Rev. Clin. Esp.* 138: 149-153, 1975.
8. LICHTMAN, M. A.; MURPHY, M.; POGAL, M.: «The use of a single venous blood sample to assess oxygen binding to haemoglobin». *Br. J. Haemat.* 32: 89-98, 1976.
9. TORRANCE, J.; JACOBS, P.; RESTREPO, A.; ESCHBACH, J.; LENFANT, C.; FINCH, C. A.: «Intraerythrocytic adaptation to anemia». *N. Engl. J. Med.* 283: 165-169, 1970.
10. HURT, G. A.; CHANUTIN, A.: «Organic phosphate compounds of erythrocytes from individuals with uremia». *J. Lab. Clin. Med.* 64: 675-679, 1964.
11. BELLINGHAM, A. J.; DETTER, J. C.; LENFANT, C.: «Regulatory mechanisms of hemoglobin oxygen affinity in acidosis and alkalosis». *J. Clin. Invest.* 50: 700-706, 1971.
12. GOODMAN, J.; BESSMAN, A. N.: «Effect of hemodialysis on red cell organic and inorganic phosphates». *Am. J. Med. Sci.* 270: 447-451, 1975.
13. BLUMBERG, A.; KELLER, G.: «Oxygen consumption during maintenance hemodialysis». *Nephron* 23: 276-281, 1979.
14. RAICH, P. C.; RODRIGUEZ, J. M.; DESAL, J. N.; SHAHIDI, N. T.: «Effecto of hemodialysis on erythrocyte 2,3-diphosphoglycerate in patients with uremia». *Am. J. Med. Sci.* 265: 147-151, 1973.
15. SZWED, J. J.; FRIEDRICH, C.; LUFT, M. D.; BOYKIN, J. R.; FARBER, M. O.; KLEIT, S. A.: «Effect of hemodialysis on oxygen hemoglobin affinity in chronic uremics». *Chest* 66: 278-281, 1974.
16. KASNITZ, P.; DRUGER, G. L.; YORRA, F.; SIMMONS, D. H.: «Mixed venous oxygen tension and hyperlactatemia. Survival in severe cardiopulmonary disease». *JAMA* 236: 570-574, 1976.