



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



FALLA DE ORIGEN

CUANTIFICACION DE NIVELES DE
METAHEMOGLOBINA EN LA POBLACION
ESTUDIANTIL DE LA F.E.S.—CUAUTITLAN
Y PUNTOS PERIFERICOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A ;
MARIA DE LOURDES ESPINOSA BARRAGAN

DIRECTOR DE TESIS: Q.F.B. RAMON CENDEJAS RAMIREZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	PAGINA
ABREVIATURAS	i
RESUMEN	iii
I. INTRODUCCION	1
II. GENERALIDADES	3
II.1 Intercambio de O ₂ y CO ₂	3
II.2 Características de la Hemoglobina	4
II.2.1 Composición de la Hemoglobina	4
II.2.2 Síntesis de la Hemoglobina	6
II.2.2.1 Síntesis del Hem	6
II.2.2.1.1 Metabolismo del Hierro	7
II.2.2.2 Síntesis de la Globina	12
II.2.3 Catabolismo de la Hemoglobina	13
II.2.4 Función respiratoria de la Hemoglobina	14
II.3 Pigmentos hemoglobínicos anormales	17
II.3.1 Carboxihemoglobina	17
II.3.2 Sulfahemoglobina	18
II.3.3 Metahemoglobina	18
II.3.3.1 Mecanismos protectores de excesiva Metahemoglobina	20

II.3.3.2	Mecanismos que protegen la reducción de la Metahemoglobina a Hemoglobina	20
II.3.3.3	Mecanismos que impiden la excesiva formación de Metahemoglobina	21
II.3.3.4	Sistemas Reductores de la Metahemoglobina	23
II.3.3.5	Causas de Metahemoglobinemia	25
II.3.3.5.1	Metahemoglobinemia Primaria	26
II.3.3.5.2	Metahemoglobinemia Secundaria o Adquirida	31
II.3.3.6	Síntomas	38
II.3.3.7	Diagnóstico	41
II.3.3.8	Tratamiento	42
III.	HIPOTESIS	46
IV.	OBJETIVO	47
V.	PARTE EXPERIMENTAL	48
V.1	Material Biológico	48
V.2	Determinación de Metahemoglobina	49
V.3	Determinación de Hemoglobina	50
V.4	Análisis Estadístico	52
VI.	RESULTADOS	55
VI.1	Químico Farmacéutico Biólogo	55
VI.2	Ingeniero Agrícola	59

		PAGINA
VI.3	Médicos Veterinarios	63
VI.4	Pacientes del Hospital 1o. de Octubre del ISSSTE	67
VII.	DISCUSION	73
VIII.	CONCLUSIONES	79
IX.	BIBLIOGRAFIA	81

FE DE ERRATAS

página	dice	debe decir
8	-ceoadípico	-cetoadípico
30	HGM	HGM

La figura 10 de la página 44, debe ocupar la página 45 y la página 45 debe ir en el -- lugar de la página 44.

A B R E V I A T U R A S

ALA	Acido α -aminolevulínico
CO ₂	Dióxido de carbono
Fe	Fierro
Glu	Acido glutámico
G-6-PDasa	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
GS-SG	Glutati6n
HbM	Hemoglobina M
HbA	Hemoglobina A
HbNO	Nitrito de Hemoglobina
Hb O ₂	Oxihemoglobina
His	Histidina
H ₂ A	Acido
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
Hosp.	Hospital
H ⁺	Protones
I. AGR.	Ingeniero Agrícola
Mhb	Metahemoglobina
M.V.Z.	Médico Veterinario Zootecnista
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADH	NAD reducido

NADP	Fosfato de NAD
NADPH	Fosfato de NAD reducido
-NO ₃	Nitrato
O ₂	Oxígeno
Oct.	Octubre
Prox.	Proximal
p-	Para
-P	Fosfato
Q.F.B.	Químico Farmacéutico Biólogo
RNA	Acido ribonucleico
SG-H	Glutación reducido
Tyr	Tirosina
Val	Valina
v.	volts

R E S U M E N

El objetivo principal de este trabajo fue determinar la concentración de metahemoglobina en los alumnos de Q.F.B. y área agropecuaria (M.V.Z. e I. AGR.) de la F.E.S.-C., así como un grupo de pacientes del Hospital 1o. de Octubre del ISSSTE.

La concentración promedio general es de 5.9%; la de estudiantes Químicos Farmacéuticos Biólogos de 4.5%, la de Ingenieros Agrícolas de 5.0%, la de Médicos Veterinarios de 4.8% y la de pacientes del Hospital 1o. de Octubre de 7.1%.

La concentración de metahemoglobina reportada como normal en la literatura es de 2% (5, 34), al encontrar un incremento en nuestro grupo de estudio, significa que éste está constantemente expuesto a agentes oxidantes de la hemoglobina.

Aunque los niveles de Metahemoglobina encontrados en éste están por arriba del normal, no llegan a niveles en que se presente cianosis y mucho menos incapacidad en las personas, ya que una concentración donde ya existe incapacidad va desde un 35% a un 45%.

En los grupos trabajados sólo 14 personas tuvieron una concentración de metahemoglobina superior al 10% y sin presentar cianosis, se reporta que una concentración superior al 10% de metahemoglobina se empieza a registrar una ligera cianosis.

I. INTRODUCCION

La vista de cianosis; zonas oscuras en la cara y manos, por ejemplo, pueden alarmar al paciente y presentar un problema de diagnóstico al médico que lo atiende. El reconocer a causa de la cianosis y el pigmento específico de la sangre que la ocasiona, implica la separación de una enfermedad fundamental de aquella de origen benigno. Una cantidad incrementada de hemoglobina reducida se encuentra en enfermedad cardiaca o pulmonar y es frecuentemente la responsable de ligera cianosis. Los más intensos grados de cianosis vista clínicamente son debidos a pigmentos anormales dentro de los eritrocitos, como son: la metahemoglobina y la sulfahemoglobina.

La metahemoglobina se forma cuando el hierro de la hemoglobina (pigmento normal de la sangre) pasa de estado ferroso a férrico, convirtiéndose así en un pigmento incapaz de transportar oxígeno (25, 35).

Normalmente sólo un 2% de hemoglobina se encuentra como metahemoglobina. Esta concentración es mantenida como resultado del equilibrio entre la tasa de oxidación de la hemoglobina y la tasa de reducción de la metahemoglobina (25, 34).

La metahemoglobina puede ser resultado de la exposición a drogas o sustancias químicas, las cuales incrementan la tasa de oxidación o bien pueden deprimir los mecanismos dentro de los eritrocitos que protegen a la hemoglobina contra la oxidación. La metahemoglobina también puede ser resultado de una anomalía en los sistemas reductores de los eritrocitos o bien de una alteración en la estructura de la molécula (25).

En este trabajo sólo se cuantificará la concentración de metahemoglobina y se realizará en alumnos de Q.F.B., alumnos de I. Agr. y Medicina Veterinaria y a un grupo de pacientes del Hospital lo. de Octubre del ISSSTE. Y no se medirá la cantidad de enzima (diaforasa) presente, que es la responsable de la reducción de la metahemoglobina, ya que dicha enzima tiene un alto costo y no fue posible conseguir un subsidio, que permitiera realizar la prueba de cuantificación de la diaforasa.

II. GENERALIDADES

II.1 INTERCAMBIO DE O_2 Y CO_2

La respiración es un proceso vital para el hombre, por medio del cual se intercambia oxígeno y CO_2 , entre el organismo y el medio ambiente.

El aire atmosférico que inhalamos es una mezcla de gases que tiene la composición de 20.96% de oxígeno; 0.04% de CO_2 y 79% de nitrógeno. Existen, además, otros gases en cantidades muy pequeñas que no tienen importancia fisiológica (2).

Cuando los gases del aire inspirado se ponen en contacto con la pared alveolar, el intercambio de ellos tiene lugar de acuerdo a las leyes físicas de la difusión; es decir, que un gas difundirá a través de la pared alveolar; y posteriormente a la sangre o bien en dirección inversa, de acuerdo a la diferencia de presión que ejerza ese gas en particular en ambos lados de la pared. El oxígeno pasa del aire alveolar a la sangre porque la presión parcial de oxígeno en el primero es mayor que en la segunda al llegar a los pulmones. El bióxido de carbono pasa en dirección opuesta porque

su presión parcial es más elevada en la sangre que llega a los pulmones. En los tejidos la situación es a la inversa; - el oxígeno pasa de la sangre a los tejidos y el bióxido de carbono penetra en la sangre (5, 21).

El transporte de oxígeno de los pulmones a los tejidos se debe a la capacidad que tiene la hemoglobina de combinarse con el oxígeno (6).

11.2 CARACTERISTICAS DE LA HEMOGLOBINA.

La hemoglobina es una proteína conjugada que tiene como principal función el transporte de oxígeno y de dióxido de carbono (10).

11.2.1 COMPOSICION DE LA HEMOGLOBINA

La molécula de hemoglobina normal posee cuatro moléculas de hem, cada una de ellas conteniendo un átomo de hierro y el resto de la molécula, está constituido por la globina, - la cual está formada por cuatro cadenas polipeptídicas, las cadenas α (ALFA) que constan de 141 aminoácidos y las cadenas β (BETA) que tienen 146 aminoácidos (6).

El átomo de hierro está unido por coordinación al nitrógeno imidazólico del residuo de histidina proximal, número 92 en la cadena β y δ' (GAMMA), para la cadena α en el número 87. El hierro del hem se encuentra a mayor distancia del

residuo de histidina distal en la posición 63 de las cadenas β y δ^* y 58 de la cadena α , y está enlazado más débilmente o no está enlazado en lo absoluto al N imidazólico. Parece que puede ser retenida una molécula de agua entre el átomo de hierro y este residuo de histidina y que la combinación del hierro con el oxígeno ocurre en este lugar. Cambios en el orden de sucesión de los aminoácidos en esta región destruyen el poder de la hemoglobina para combinar oxígeno (6, 32).

Existen varios tipos de hemoglobinas, refiriéndonos a la estructura globínica que presentan:

Hemoglobina A_1 (HbA₁). Es la principal hemoglobina que existe después del nacimiento; está formada por dos cadenas α y dos cadenas β , su fórmula es $\alpha_2\beta_2$. A partir del quinto mes de vida constituye el 98 por ciento de la hemoglobina de la persona normal (6, 32).

Hemoglobina A_2 (HbA₂). No se conoce bien su función, pero cuando falta la hemoglobina A_1 , ésta la puede suplir. Contiene dos cadenas α y dos cadenas δ (DELTA), su fórmula es $\alpha_2\delta_2$. Existe en un 2.5 por ciento aproximadamente (6, 32).

Hemoglobina Fetal (Hemoglobina F o HbF). Es la hemoglobina que se presenta en mayor cantidad durante la vida fetal. En un adulto normal constituye aproximadamente el 0.5 por ciento. Su fórmula es la siguiente: $\alpha_2\delta^*_2$ o sea que posee dos moléculas de la cadena α y dos de la cadena δ^* (GAMMA) (6, 32).

Hemoglobinas Embrionarias (Hb Gowers-1 y Hb Gowers-2). La hemoglobina Gowers-1 está formada por cuatro cadenas de tipo ϵ (EPSILON) y cuya fórmula es ϵ_4 . La hemoglobina Gowers-2 es más parecida a las otras hemoglobinas normales, contiene dos cadenas α y dos cadenas ϵ , su fórmula es $\alpha_2\epsilon_2$ (6).

<u>Hemoglobina</u>	<u>Fórmula</u>
HbA ₁	$\alpha_2\beta_2$
HbF	$\alpha_2\gamma_2$
HbA ₂	$\alpha_2\delta_2$
Hb Gowers-1	ϵ_4
Hb Gowers-2	$\alpha_2\epsilon_2$

11.2.2 SINTESIS DE LA HEMOGLOBINA

La hemoglobina se forma en el eritrocito en desarrollo dentro de la médula ósea, y la formación más rápida ocurre en el estadio de eritroblasto policromático (29).

La síntesis de la hemoglobina se lleva a cabo en dos sitios específicos de los precursores eritroides; la síntesis del hem que ocurre en las mitocondrias, la síntesis de la globina que tiene lugar en los polirribosomas y la forma tetramérica final, se produce en el citoplasma (29).

11.2.2.1 SINTESIS DEL HEM

La succinilcoenzima A se condensa con la glicina para

formar un compuesto intermedio inestable, el ácido α -amino- β -cetoalópico, que es descarboxilado para dar el ácido α -aminolevulínico (ALA) (fig. 1). Esta condensación requiere de fosfato de piridoxal (vitamina B₆) y debe tener lugar en mitocondrias (10).

Dos moléculas ALA se condensan para formar un monopirrol el porfobilinógeno, esta reacción está catalizada por la enzima ALA-deshidrasa (10).

Para formar el uroporfirinógeno III o I (fig. 2), reaccionan cuatro moléculas de porfobilinógeno. El isómero III se convierte por la vía del coproporfirinógeno III y el protoporfirinógeno lo hace en protoporfirina. La protoporfirina se suele encontrar en los eritrocitos maduros (10).

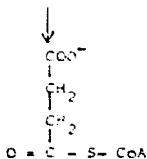
El hierro se inserta en la molécula de protoporfirina mediante la enzima mitocondrial ferroquetalasa, para formar la molécula del hem completa (10).

II.2.2.1.1 METABOLISMO DEL HIERRO

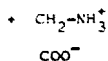
El hierro es un mineral muy importante para la formación de la hemoglobina, mioglobina, citocromo oxidasa y otras sustancias como las flavoproteínas (citocromo C reductasa, succinato deshidrogenasa, deshidrogenasa de NADH), por lo cual, es esencial entender los mecanismos en virtud de los cuales el hierro es utilizado por el organismo (19).

Del ciclo del ácido

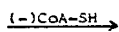
tricarboxílico



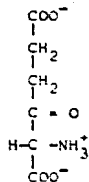
Succinilcoenzima A



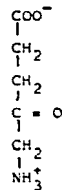
+ Glicina



$\xrightarrow{\text{A}}$

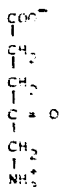


α -amino- β -
cetoadipato

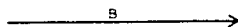
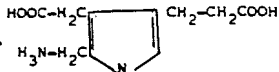
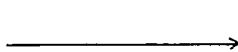
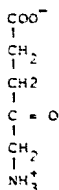


Acido

δ -aminolevulínico



Acido δ -aminolevulínico



PORFEBILINOGENO

Fig. 1. Formación de porfobilinógeno a partir de glicina y de succinilcoenzima A (10).

La succinilcoenzima A del ciclo de ácido tricarbónico con adición de la glicina forman el ácido α -amino- β -cetoadípico, que luego se descarboxila para dar el ácido δ -aminolevulínico. Dos moléculas de ácido δ -aminolevulínico se condensan para formar el porfobilinógeno.

A: ALA-sintetasa y Vitamina B₆

B: ALA-deshidrasa

Distribución del Hierro.

La cantidad total de hierro en el cuerpo es, en promedio, de 4 g; aproximadamente el 65% de hierro se halla en forma de hemoglobina. El 4% se encuentra en forma de mioglobina; el 1% en forma de diversas enzimas de heme que controlan la oxidación intracelular; el 15% en forma de transferrina en el plasma sanguíneo y del 15 al 30% aproximadamente, en forma de ferritina y hemosiderina (19).

Fuentes y Requerimientos de Hierro.

Las principales fuentes de hierro son las vísceras animales: hígado, corazón, riñón y bazo. Por su contenido de hierro son importantes también la yema de huevo, carnes, pescados, los cereales, frutas (granada y melocotón), legumbres (habas y lentejas), verduras y hortalizas (coliflor y rábanos). El preparar los alimentos en utensilios de hierro es considerado un aporte del elemento (41).

El requerimiento de hierro varía de 0.5 a 1.5 mg en cuanto al que es absorbido, el cual viene contenido en una dieta que puede tener de 10 a 25 mg de hierro (27).

Absorción del Hierro.

A nivel de mucosa duodenal, el hierro penetra en forma ferrosa en el epitelio intestinal, una vez en las células de la mucosa, en seguida se oxida y se convierte en hidróxido férrico insoluble micelar. Las micelas de hidróxido férrico, se unen a una proteína endocelular que se denomina apoferritina, en la que el hierro queda depositado en forma férrica.

El hierro, cuando se halla depositado, tanto en los alimentos como en la mucosa duodenal o en el hígado o en el bazo, - siempre se encuentra en forma trivalente, y sólo cuando debe atravesar membranas adquiere la forma ferrosa. Por tanto, para que se lleve a cabo el paso del hierro captado por la pared duodenal hacia el torrente sanguíneo, el hierro férrico debe pasar a ferroso por reducción (hidrogenación), para luego convertirse en férrico, por oxidación, una vez que ha penetrado al torrente sanguíneo (6, 41).

Transporte de Hierro.

Una vez incorporado al plasma, el hierro férrico no queda libre, sino que se une a una molécula de CO_2 y a la globulina β_1 del plasma sanguíneo, quedando de esta forma integrado un complejo que recibe el nombre de transferrina o siderofilina (6).

La función más importante de la transferrina, es proporcionar los medios para la movilización del hierro desde los lugares de depósito, una vez que ha penetrado en el plasma - va hasta los eritroblastos de la médula ósea. La transferrina se une brevemente a la membrana del eritroblasto, libera su carga de hierro y regresa al plasma para recoger otras iones férricos libres (41).

El hierro en los eritroblastos aparece en las mitocondrias como agregados amorfos que se denominan micelas ferruginosas (41).

Eliminación del Hierro.

El hierro que no se absorbe en el duodeno es eliminado por las heces (41).

El hierro libre que se encuentra en el plasma después de que la hemoglobina ha sido desintegrada, se une a la transferrina y se redistribuye. Una parte del hierro es incorporado de nuevo a la hemoglobina y el sobrante queda almacenado como ferritina o hemosiderina (27).

II.2.2.2 SINTESIS DE LA GLOBINA

La síntesis proteica tiene lugar en los polirribosomas. Los polirribosomas sintetizan las cadenas α de la globina y la rapidez de la reacción depende de la presencia de cadenas α libres. Las cadenas α libres se unen a las cadenas β cuando todavía éstas se encuentran sobre los polirribosomas, pasando así al citoplasma subunidades $\alpha\beta$ libres. El hem abandona la mitocondria y se combina con cada cadena del dímero. Finalmente, se juntan dos subunidades $\alpha\beta$ para formar la tetra de hemoglobina completa. El hem se adapta a una zona muy hidrófoba de la superficie de cada cadena de globina y se conserva en contacto con la histidina y otros grupos químicos vecinos a dicho lugar gracias a las fuerzas de Van der Waals. De esta manera queda integrada la molécula de hemoglobina funcional (29).

II.2.3 CATABOLISMO DE LA HEMOGLOBINA

Una vez que los eritrocitos desaparecen de la circulación captados por las células reticuloendoteliales la hemoglobina es liberada, pero no eliminada como tal, sino que es degradada en sus tres constituyentes: hierro, protoporfirina y globina. El hierro obtenido es transportado hacia médula ósea para incorporarse de nuevo al grupo hem o queda en las células reticuloendoteliales en forma de ferritina o hemosiderina. Las cadenas globínicas se degradan hasta aminoácidos que entran a formar parte de la reserva de aminoácidos del organismo. El anillo de protoporfirina se desdobra y se convierte en varios pigmentos biliares (10, 41).

De acuerdo a los distintos órganos que intervienen en la desintegración de la hemoglobina, existen tres fases de dicha desintegración:

- 1) Fase prehepática. Destrucción del eritrocito que tiene lugar especialmente en el bazo, aunque se puede llevar a cabo en cualquier lugar del sistema reticuloendotelial, liberándose se hemosiderina y bilirrubinglobina.
- 2) Fase hepática. Es separada la molécula de globina, quedando bilirrubina que es conjugada con ácido glucurónico, dando el mono y diglucuronato de bilirrubina que son solubles y se eliminan por bilis.
- 3) Fase posthepática. Actúan las bacterias de la flora intest

tinal, convirtiendo la bilirrubina en mesobilirrubinógeno. Este es posteriormente transformado en estercobilinógeno y éste oxidado a estercobilina que se elimina por heces. Parte del estercobilinógeno es absorbido a través de la pared intestinal siendo nuevamente eliminado a través del hígado por la bilis y una pequeña cantidad es excretada por orina. En la orina también se oxida a estercobilina (6).

II.2.4 FUNCION RESPIRATORIA DE LA HEMOGLOBINA.

Existen dos procesos que se deben diferenciar, la oxigenación, que es el proceso en el cual la hemoglobina toma un átomo de oxígeno, y otro la oxidación, en el cual el hierro ferroso pasa a hierro férrico y que no es un proceso respiratorio (6).

Cuando la hemoglobina se encuentra con una presión baja de oxígeno tiende a perderlo de su molécula, en cambio, por el contrario, una fuerte presión de dicho gas aumenta la avidez de la hemoglobina por él, que entonces tiende a fijarlo - con más avidez. Por ello la hemoglobina se comporta como un agente de transporte de oxígeno (6).

Este efecto de que el aumento de la presión de oxígeno aumenta la avidez de la hemoglobina por este mismo elemento es muy importante. Este efecto no se presenta en la mioglobina, que también tiene la capacidad de captar oxígeno (6).

En el caso de la mioglobina, cuando aumenta la presión de oxígeno, las moléculas se van cargando de este elemento, y a medida que las moléculas se van saturando quedan cada vez menos moléculas para captar oxígeno; de ello se forma una curva rápidamente ascendente que pronto se aplanan y llega a un máximo; se trata de una curva hiperbólica (fig. 3) (6).

Con la hemoglobina sucede una cosa diferente al aumentar la concentración de oxígeno, al principio el ascenso es lento, debido a que estas primeras presiones sirven para preparar a la molécula de hemoglobina, y después tiene lugar una ascensión rápida de captación de oxígeno (fig. 3).

La capacidad de la hemoglobina de liberar oxígeno, cuando existe hipoxia en los tejidos, está mediada por el 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) formado en el ciclo Rappaport Luebering de la vía glicolítica del eritrocito. Situado en el centro de la molécula de hemoglobina, el 2,3-DPG es el modulador que aumenta o disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, de modo que cuando hay hipoxia aumenta el 2,3-DPG y disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, liberándose éste más fácilmente. Por el contrario, si no hay hipoxia, el 2,3-DPG se desplaza de su situación en el interior de la molécula de hemoglobina, facilitando que el oxígeno quede ligado a ésta. Es, pues, una acción casi de tipo competitivo sobre la molécula de hemoglobina la que desarrollan el oxígeno y el 2,3-DPG y reguladora de la liberación del oxígeno hemoglobina. También es de importancia la concen

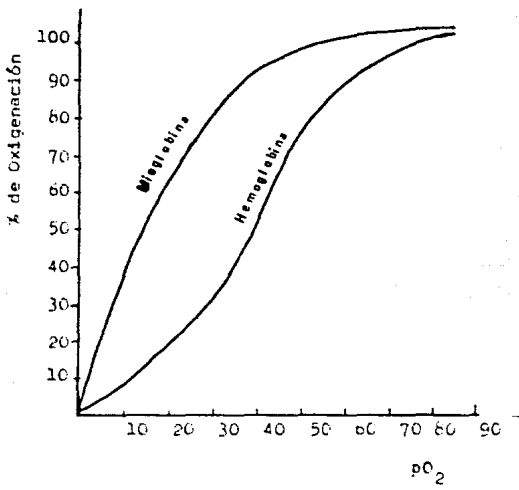


Fig. 3 Curva de oxigenación de la mioglobina y de la hemoglobina. Al pasar de una presión de 0 a 20 de presión parcial de oxígeno la mioglobina se ha semisaturado de oxígeno. Con el mismo cambio de presión parcial de oxígeno la hemoglobina se ha oxigenado aún en poca cantidad, y en cambio entre las presiones de 30 a 50 sufre la máxima oxigenación (6).

centración de iones H^+ . Cuando éstos aumentan (acidez) la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno decrece (Efecto Bohr) (42).

II.3 PIGMENTOS HEMOGLOBINICOS ANORMALES

Las dos hemoglobinas fisiológicas, la oxihemoglobina y la hemoglobina reducida, se convierten fácilmente en una serie de compuestos por acción de ácidos, álcalis, sustancias oxidantes y reductoras, el calor (in vitro) y otros agentes. Los compuestos formados son: carboxihemoglobina, sulfahemoglobina y metahemoglobina (19).

II.2.1 CARBOXIHEMOGLOBINA

La hemoglobina puede combinarse con monóxido de carbono en mayor proporción que con el oxígeno. Su mayor avidez se manifiesta por la afinidad de la molécula de hemoglobina que es 210 veces mayor que por el oxígeno. Ello significa que el monóxido de carbono se fijará a la hemoglobina aún en concentraciones en el aire tan bajas como el 0.02 al 0.40% (22).

Este compuesto es incapaz de transportar oxígeno, produciendo hipoxia en los tejidos. Algunos de los síntomas de la intoxicación con este gas son dolor de cabeza, vértigo, debilidad muscular y náuseas. Se presenta este tipo de intoxicación por efecto de la inspiración del humo de aparatos de combustión, como los coches, por ejemplo (6, 10).

11.3.2 SULFAHEMOGLOBINA.

Es un compuesto que resulta de la acción de sulfuros inorgánicos y peróxido de hidrógeno sobre la hemoglobina. La composición química es desconocida, se supone que un átomo de azufre entra en la molécula de hemoglobina y provoca un cambio en el enlace entre la globina y el hem (6, 22).

La sulfahemoglobina no puede transportar oxígeno pero sí combinarse con CO para formar carboxihemoglobina. La sulfahemoglobina no se puede volver a reducir a hemoglobina y permanece en los corpúsculos de Heinz (precipitación de hemoglobina) hasta que se degradan (10, 22).

El cuadro clínico se presenta con anoxia, cianosis, cianosis, cefalea y estreñimiento (10, 22).

Es propia de las intoxicaciones por fenacetina, acetanilida, por ejemplo (10, 22).

11.3.3 METAHEMOGLOBINA

La metahemoglobina (ferrihemoglobina) es un producto de la oxidación del pigmento normal de la sangre, la hemoglobina. En la metahemoglobina, el hierro está presente en estado férrico (3).

La metahemoglobina es inadecuada para transportar oxígeno, por tanto, es considerada como un pigmento temporalmente

inerte y reversible (14).

Sólo alrededor del 2% de la hemoglobina (5, 35) total de los eritrocitos se encuentra en la forma de metahemoglobina, - esta concentración es mantenida como resultado del equilibrio entre la tasa de oxidación de la hemoglobina y la tasa de reducción de la metahemoglobina. Cuando los mecanismos de reducción de la metahemoglobina son deficientes, puede encontrarse un 3% de la hemoglobina total por día como metahemoglobina. - La metahemoglobina puede ser resultado de la exposición a drogas o sustancias, las cuales incrementan la oxidación y que pueden inhibir los mecanismos dentro de los eritrocitos, que protegen a la hemoglobina contra la oxidación. Una vez que la metahemoglobina es formada dentro del eritrocito puede ser reducida a hemoglobina por enzimas o reacciones químicas. La metahemoglobina también puede ser resultado de la incapacidad para reducir metahemoglobina. Tal incapacidad puede ser consecuencia de una anomalía en los sistemas reductores de los hematíes o de una alteración de la estructura de la molécula de hemoglobina, a estas hemoglobinas anormales se les conoce como hemoglobinas M (HbM) (14, 25).

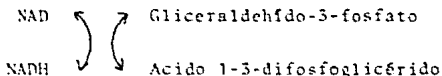
La sangre que contiene metahemoglobina es de color rojo pardo, se presenta cianosis periférica y los efectos variables de la anoxia de los tejidos (6).

II.3.3.1 MECANISMOS PROTECTORES DE EXCESIVA METAHEMOGLOBINA

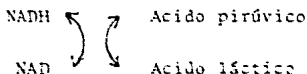
La hemoglobina dentro de los hematíes está mejor protegida de la oxidación que la hemoglobina hemolizada. La oxigenación de la sangre también protege a la hemoglobina de la oxidación, esto es que el oxígeno molecular no tiende a oxidar a la hemoglobina. Un mecanismo químico protector está constituido por el glutatión de los eritrocitos (6, 14).

II.3.3.2 MECANISMOS QUE PROTEGEN LA REDUCCION DE LA METAHEMOGLOBINA A HEMOGLOBINA.

En el ciclo de Embden-Meyerhof existen dos pasos que están muy relacionados con la reducción de la metahemoglobina y son los siguientes:

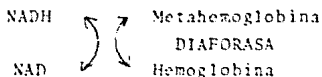


y en la última fase de este ciclo existe un proceso energético semejante pero invertido:



El NADH puede actuar sobre la molécula de metahemoglobina a la que reduce. Esta reducción es muy lenta y por ello Gibson sostiene que existe un portador intermediario que ace-

lera la reacción: se trata de la NADH-metahemoglobina reductasa o diaforasa que existe en el hematíe humano normal:



En ciertos pasos de la glucólisis se forma NADH a partir de NAD; este NADH va a actuar sobre la molécula de metahemoglobina añadiéndole H^+ y luego reduciéndola a hemoglobina, y esta reacción es acelerada por la enzima diaforasa (6, 20, 21, 25).

Los mecanismos antes mencionados dependen de la degradación de la glucosa, que puede hacerlo por la vía de Embden-Meyerhof o anaerobia. Existe otro camino para la degradación de la glucosa, que es la vía de las hexosas monofosfato, o sea la vía aerobia: en el paso de glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconato el NADP pasa a NADPH (fig. 4) y la misma reducción existe en el paso de 6-fosfogluconato a ribulosa-5-fosfato. El NADPH formado por esta ruta también puede reducir a la metahemoglobina y aquí también se habla de una enzima: la NADPH-metahemoglobina reductasa o también denominada hemoglobina reductasa (6, 25).

II.3.5.3 MECANISMO QUE IMPIDE LA FORMACION EXCESIVA DE METAHEMOGLOBINA

Los eritrocitos tienen tendencia a formar productos oxí-

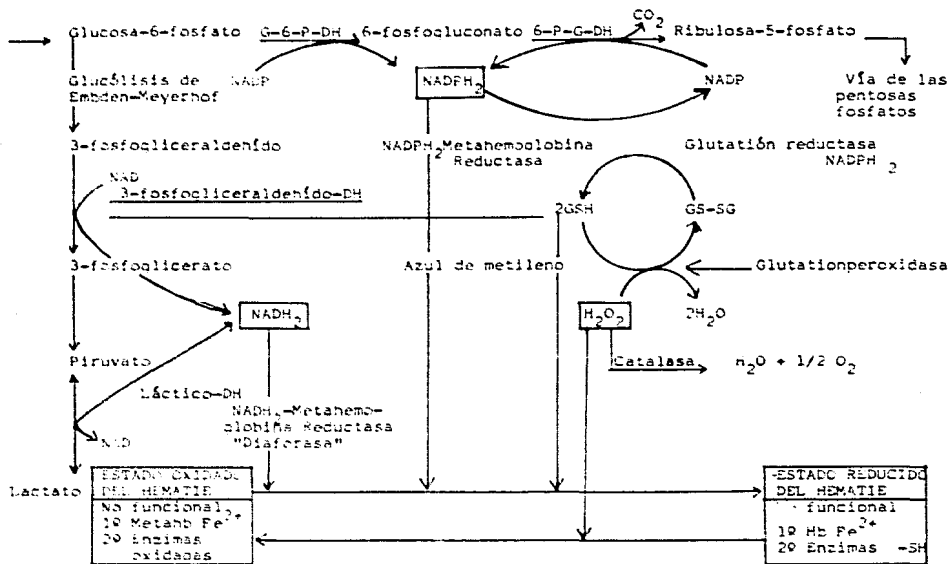


Fig. 4 Mecanismos de protección contra la oxidación (10).

A la izquierda, ciclo de Embden-Meyerhof. Parte superior, vía de las pentosas fosfato. En medio mecanismos de oxidorreducción, y en la parte inferior representación de su efecto sobre el eritrocito.

dados, y uno de ellos es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que es capaz de oxidar a la hemoglobina. Pero existe un mecanismo normal que dificulta la posible formación de metahemoglobina a partir de este peróxido de hidrógeno que puede formarse. Es te mecanismo se establece por NADH que se ha formado por el - paso de glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconato por la acción de G-6Pasa. El NADH actúa sobre el glutatión (GS-SG), al que reduce ($2SG-H$), el glutatión reducido actúa por medio de una en zima, la glutatión peroxidasa, sobre el peróxido al que reduce pasándolo a agua, o sea: H_2O_2 pasa a H_2O , cediendo oxígeno. Con la desaparición del peróxido se anula la posibilidad de - que este peróxido actúe sobre la hemoglobina y se oxide a metahemoglobina (fig. 5) (6, 25).

Se trata de un mecanismo de oxidorreducciones con concepción de energía; la oxidación de la glucosa-6-fosfato a - 6-fosfogluconato condiciona la reducción de NAD que pasa a - NADH, éste transforma al glutatión oxidado a la forma reducida ($GS-GS \rightarrow 2GSH$) y esta reducción se establece sobre el per óxido ($H_2O_2 \rightarrow H_2O$) evitando que éste produzca una posible - oxidación de la hemoglobina, a la que transformaría en metahem oglobina (6, 25).

11.3.3.4 SISTEMAS REDUCTORES DE METAHEMOGLOBINA

En orden de importancia y expresado en por ciento de la capacidad de reducción de metahemoglobina del eritrocito, di-

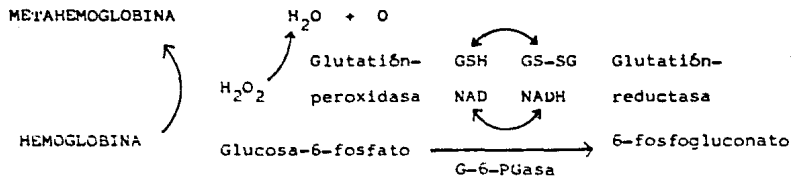


Fig. 5 La transformaci6n de glucosa-6-fosfato al comienzo del ciclo de las pentosas, desencadena una serie de procesos de oxidoreducci6n que deshacen al H_2O_2 , dificultando con ello la transformaci6n de hemoglobina en metahemoglobina (b).

chos sistemas reductores son: NADH-metahemoglobina reductasa, 73%; ácido ascórbico, 12%; glutatión reducido (GSH), 9% y NADPH-metahemoglobina reductasa, 9%. La NADH-metahemoglobina reductasa es el principal sistema de reducción de la metahemoglobina y la falta o notable deficiencia de esta enzima, es acompañada de metahemoglobinemia. El ácido ascórbico logra una reducción directa, pero lenta de la metahemoglobina y en concentraciones normales (alrededor de 1 mg/100 ml de hemafes) interviene poco o nada en la prevención de la formación de metahemoglobina. Así mismo, el glutatión reducido, cuya concentración en el eritrocito es de 70 mg/100 ml y el NADPH, reducen lentamente la metahemoglobina (25, 37).

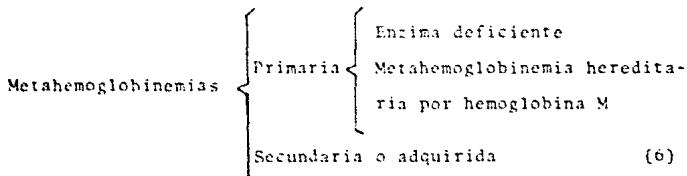
El ácido ascórbico, el glutatión reducido y la NADPH-metahemoglobina reductasa son sistemas de reserva que sólo tienen actividad efectiva cuando la tasa de reducción de metahemoglobina es baja y por tanto, se tiene una concentración muy superior al 2% de metahemoglobina, que se considera normal (5, 31).

11.3.3.5 CAUSAS DE METAHEMOGLOBINEMIA

Los síndromes desarrollados por la presencia de metahemoglobina son variables. Todos ellos tienen en común la presencia de cianosis periférica, sangre de color rojo pardo, y efectos variables de hipoxia en los tejidos (6).

Las causas de metahemoglobinemia son variables, por lo

cual también los síndromes clínicos ofrecen distintos aspectos, se pueden clasificar de la siguiente manera:



II.3.3.5.1 METAHEMOGLOBINEMIA PRIMARIA

a) Enzima deficiente. Existen tres sistemas de reducción enzimática que pueden fallar por la correspondiente deficiencia. Ellos son:

1. La diaforasa o NADH-metahemoglobina reductasa.
2. La NADPH-metahemoglobina reductasa.
3. La glutatión reductasa que transforma el GSH en GS-SG con la que se reduce el peróxido.

Cualesquiera de las tres enzimas pueden fallar, teniendo se así tres posibles síndromes, de los cuales sólo el primero, aunque raro, es bien conocido, las otras dos deficiencias son muy raras (6).

Clinica de las deficiencias.

1. Deficiencia de diaforasa. La deficiencia de diaforasa se descubrió en esquimales e indios de Alaska, pero se han descrito casos en Norteamericanos, Europeos, Cubanos, Porto-

riqueños, etc. (6,38).

Se trata de una enfermedad congénita, hereditaria de tipo autosómico recesivo, los individuos afectados son homocigotos, tienen en sangre de 30 a 40 por ciento de metahemoglobina (6).

En el momento de nacer ya se manifiesta el trastorno, con una cianosis de intensidad variable, el tinte según los casos puede ser: azulado, violáceo o pardo y se aprecia mejor en la boca, labios, orejas, mejillas y lecho ungueal de las manos y pies (6).

En su forma más grave se tienen trastornos de tipo nervioso, cefaleas, disnea, estrabismo, retraso mental (24), pudiéndose acompañar de disminución de neuronas y deficiencia en la mielinización; en estos casos la supervivencia es menor. Se trata de una afección benigna (6).

La sangre es de color violáceo o pardo, el color no desaparece con la oxigenación (6).

En algunos casos los parientes directos (padres, hijos) se pueden hallar signos de metahemoglobinemia, tratándose de individuos heterocigotos (6, 2).

2. Deficiencia de NADPH-metahemoglobina reductasa. Se trata de una deficiencia muy rara, cuyo tipo de herencia no está bien determinado (6).

3. Metahemoglobinemia por síntesis inadecuada de glutatión. Se trata de una deficiencia excepcionalmente rara, que se hereda como rasgo dominante, y existe una deficiencia de la actividad enzimática del gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, dando como resultado una generación deficiente de NADH, que a su vez genera la deficiencia de los mecanismos de reducción de la metahemoglobina (6).

b) Metahemoglobinemia hereditaria por hemoglobina M. La metahemoglobinemia debida a hemoglobina M es rara y existe únicamente en la forma heterocigota. La forma homocigota probablemente no es compatible con la vida (6).

Las hemoglobinas M (HbM) difieren de la hemoglobina normal del adulto (HbA) por la sustitución de un aminoácido (histidina) en las cadenas alfa o beta. En las HbM, el aminoácido sustituido parece encontrarse cerca del hierro del grupo hem, al cual transforma y cuyo átomo de hierro pasa a la forma oxidada, férrica, sin poder volverse a la forma ferrosa. Esto impide la función normal de la NADH-metahemoglobina reductasa (diaforasa) para reducir la metahemoglobina (6, 32).

Hemoglobinas M. Se han separado cinco tipos de hemoglobinas M, en la figura 6 se muestran las clases de HbM que existen y la sustitución de aminoácidos.

La HbM_{Boston} posee en la cadena α un residuo 58 (posición E7) con substitución de la histidina distal por tirosina.

La HbM Saskatoon, cuya alteración es muy similar a la anterior y está en la cadena β , ya que posee un residuo 63 (la misma posición E7), también una tirosina en vez de la histidina distal. Ambas hemoglobinas poseen el mismo cambio y en la misma posición (E7 o histidina distal), lo que varía es la cadena. En ambas hemoglobinas el grupo fenólico de la tirosina forma un complejo con el hem, que permanece en forma oxidada (6).

La HbM Milwaukee, posee la alteración no en la histidina distal, pero sí en su vecindad, pues el cambio está en el residuo 67 (posición E11) de la cadena β . Cambiando una valina por el ácido glutámico y en este caso se establece interacción entre el radical carboxilo de este ácido glutámico y el ión hierro del hem, que permanecerá en estado oxidado (6).

Las dos hemoglobinas M que a continuación se estudian, - presentan substitución en la histidina proximal. La HbM Ivate, que presenta la substitución de histidina por tirosina, en la cadena α , residuo 87, posición F8. La otra hemoglobina de este grupo es la HbM Hyde Park, que presenta la misma substitución en la cadena β , residuo 92 (posición F8). Ambas hemoglobinas poseen un cambio en la histidina proximal, que se sustituye por el aminoácido tirosina. Las causas por las que se produce metahemoglobinemia en estas dos hemoglobinas anormales, son difíciles de aclarar; en primer lugar parecería que la falta de histidina proximal del hem, que es su principal sostén, tendría que privar el enlace de este hem con la mo-

Hemoglobina	Cadena	Substitución		
		His. Proximal	His. Distal	Vecindad His. Distal
HbM _{Ivate}	α	Tyr	-	-
HbM _{Hyde Park}	β	Tyr	-	-
HbM _{Roston}	α	-	Tyr	-
HbM _{Saskatoon}	β	-	Tyr	-
HbM _{Milwaukee I}	β	-	-	67 Val \rightarrow Glu

Fig. 6. Clases de Hemoglobinas M y la sustitución de aminoácidos. Histidina proximal o distal por tirosina y el cambio de valina por ácido glutámico en la HbM_{Milwaukee I}. (6)

lúcula de globina. Lo que ocurre es cuando la tirosina reemplaza a la histidina proximal, la acción de enlace es entonces sustituida por la histidina distal, que es la que hace verdadero enlace químico, o sea que se cambia la acción de ambas histidinas, pasando la función principal de unión a la histidina distal (cuya acción normalmente era secundaria) y por otro lado la tirosina (que sustituye a la histidina proximal), por medio del grupo fenólico forma un enlace secundario con el hem, cuyo hierro fija en forma oxidada (6, 38).

II.3.3.5.2 METAHEMOGLOBINEMIA SECUNDARIA O ADQUIRIDA

La metahemoglobinemia secundaria es causada por sustancias exógenas que actúan sobre la hemoglobina, la formación excesiva de metahemoglobina, supone que el agente penetra al eritrocito y produce la conversión de hemoglobina a metahemoglobina a una velocidad que excede a los mecanismos reductores de metahemoglobina existentes en la célula (12).

Las sustancias exógenas pueden ser de varios tipos, como: medicamentos y sustancias químicas, tabla 1.

Acetanilida	Hidroxiquinona
Aminofenol	Nitratos
Anilina	Nitritos
Antipirina	Nitrobenceno
Benzocafna	Nitroglicerina
Clorato potásico	Sulfonamidas
Cloronitrobenceno	Subnitrito de bismuto
Fenacetina	
Fenilhidracina	

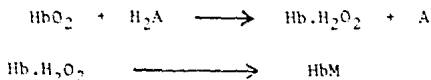
Tabla 1. Posibles agentes causantes de metahemoglobinemia (6).

La oxidación del hierro puede realizarse por cualesquiera de los siguientes caminos: A) por la acción directa de oxidantes, B) donadores de hidrógeno en presencia de oxígeno atmosférico y C) autooxidación (5, 11).

A) Por acción directa de oxidantes. Sustancias con alto potencial de oxidación, este es superior al de óxido/reducción de metahemoglobina/hemoglobina, que es de 0.15 v. Ejemplo de este grupo son: ferricianuro, cloratos, nitratos, quinonas, - algunos colorantes, etc. (5, 12, 28).

B) Por acción directa de donadores de hidrógeno en presencia de oxígeno atmosférico. Sustancias que tienen potenciales de oxidorreducción muy por abajo del de la hemoglobina (0.15 v), van a actuar como reductores donadores de hidrógeno

más que como oxidantes, no obstante forman metahemoglobina en presencia de oxígeno atmosférico. Esto puede suceder a causa del peróxido de hidrógeno formado durante la autooxidación - del agente reducido en presencia de O_2 , ya que en el eritrocito concentraciones bajas de peróxido de hidrógeno formadas - gradualmente pueden oxidar a la hemoglobina aún si está presente una gran cantidad de catalasa. Un segundo mecanismo que tampoco es inhibido completamente por la catalasa consiste en la interacción de agentes donadores de hidrógeno (H_2A) directamente con la oxihemoglobina (O_2Hb), dando por resultado un complejo inestable hemoglobina peróxido de hidrógeno:



Ejemplos de este mecanismo son: aminofenoles, fenilhidroxilaminas, compuestos nitrosoaromáticos, etc. (3, 12).

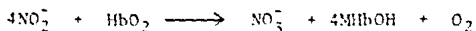
C) Autooxidación. El proceso de autooxidación puede deberse a un rompimiento del intermediario de la oxihemoglobina ($Hb_4(O_2)_2$), a su interacción con donadores de hidrógeno de la parte globina de la molécula o a una acción enzimática (3, 12).

Las sustancias exógenas pueden actuar directamente o bien en forma indirecta, esto es que causan metahemoglobinemia, sólo después de sufrir transformación metabólica (17).

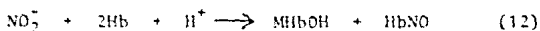
1.- Oxidantes Directos de la Hemoglobina.

a) Nitratos. Los nitratos son muy eficientes produciendo meta

hemoglobina in vivo e in vitro, el mecanismo de reacción no es aún bien conocido, se ha formulado un proceso general en la forma siguiente:



en ausencia de oxígeno la reacción de la hemoglobina reducida es:



El nitrito de sodio y los ésteres orgánicos de nitritos y nitratos, nitrito de amilo, trinitrato de glicérido, nitrito de etilo, etc., son usados como vasodilatadores coronarios, para reducir la presión arterial, y en el tratamiento de la intoxicación por cianuro, pero también pueden causar metahemoglobinemia. La metahemoglobinemia provocada por nitritos se ha producido accidentalmente al ingerir alimentos que contienen cantidades excesivas de nitrito, ya que pueden ser usados legalmente para la preservación del color en el procesado de carne o ilegalmente, para enmascarar o retardar la descomposición de la carne o pescado (12, 15).

b) Nitrato. El nitrato normalmente no provoca metahemoglobinemia, no obstante muchos casos se han reportado en lactantes, cuyas preparaciones alimenticias han sido hechas con agua de pozo. En estos lactantes las enterobacterias reductoras de nitrato, lo reducen a nitrito que se absorbe y forma metahemoglobina (8).

Existen dos factores adicionales en estos niños pequeños, volviéndolos más susceptibles que individuos de más edad. La hemoglobina fetal forma metahemoglobina más fácilmente que la hemoglobina adulta y los recién nacidos tienen 60 a 80 por ciento y los prematuros hasta un 90 por ciento de hemoglobina fetal. También hay una deficiencia relativa de metahemoglobina reductasa dependiente de NADH en el periodo neonatal. Los lactantes por lo tanto pueden desarrollar metahemoglobinemia a partir de muchas drogas (12, 36).

Se ha presentado metahemoglobinemia cuando se han usado subnitrito de bismuto en el tratamiento de diarrea, por el uso de nitrato de antimonio como diurético y en pacientes con lesiones ulcerativas en el intestino, después de ingerir nitratos (12).

c) Cloratos. El clorato que se usa en cerillos, herbicidas, gargarismos y antisépticos bucales, es también uno de los productos de biotransformación del hipoclorito (blanqueador doméstico); se combina con pequeñas cantidades de metahemoglobina, y el clorato de metahemoglobina que se forma resulta ser un catalizador oxidativo potente que forma metahemoglobina. Es un efecto catalítico más que una verdadera oxidación directa en el curso del cual el clorato será reducido con rapidez, cantidades relativamente pequeñas de clorato pueden formar grandes cantidades de metahemoglobina (5, 12).

d) Quinonas. Las quinonas tienen potenciales de oxidación su-

ficientemente altos para oxidar a la hemoglobina ferrosa a férrica (3, 12).

II.- Oxidantes Indirectos de la Hemoglobina.

Compuestos aromáticos nitro y amino. Diversas sustancias aromáticas que contienen grupos amino y nitro, tabla 2, pueden producir metahemoglobinemia, después de que sufren biotransformación (5, 7, 35).

Drogas que contienen o liberan aminas aromáticas	Productos químicos
Analgésicos	Anilina
Acetanilida	Derivados de la anilina
Paracetamol	anilina
Fenacetina	p-Nitroanilina
Sulfanídicos	Nitrobenzeno
Sulfanilamina	Nitrofenoles
Anestésicos locales	Nitrotoluenos
Benzoína	Fenilhidracina
Antipalúdicos	
Pamaquina	
Cloraquina	
Amodiaquina	
Primaquina	

Tabla 2. Compuestos aromáticos con grupos amino y nitro que producen metahemoglobinemia (5).

Los grupos amino son oxidados y los grupos nitro son reducidos, estas reacciones tienen lugar en el hígado, proporcionando sistemas de oxidación-reducción formados por un compuesto hidroxilamino y un compuesto nitroso que penetra en el eritrocito y reacciona autocatalíticamente formando metahemoglobina. El proceso se ilustra en la figura 7 y se utiliza como ejemplo a la anilina y el nitrobenzeno (5).

La causa más común de metahemoglobinemia es una dosis excesiva accidental o deliberada de drogas analgésicas que contienen anilina (4, 12, 33).

La fenacetina y acetanilida se absorben rápidamente en el tracto gastrointestinal. La acetanilida es metabolizada con rapidez, especialmente en hígado, formándose una pequeña cantidad de anilina que a su vez es convertida a fenilhidroxilamina, que es responsable de la producción de metahemoglobina. La mayor parte de la acetanilida es metabolizada a N-acetil-p-aminofenol (paracetamol) no origina metahemoglobinemia pues no es metabolizado a fenilhidroxilamina. Una pequeña cantidad de fenacetina se convierte en p-fenetidina que a su vez se convierte en un derivado hidrolilamínico que da lugar a la formación de metahemoglobina, pero la mayor parte del fenacetina se metaboliza a paracetamol. La figura 8 muestra la interconversión y metabolismo de la acetanilida, fenacetina y paracetamol (5).

Cualquier compuesto puede producir metahemoglobinemia si

es capaz de oxidar a la hemoglobina. El grado de metahemoglobinemia producido por una sustancia particular, por lo tanto, depende de un número de factores: la vía de administración; - la conversión en el tracto intestinal por bacterias u otros - agentes; la tasa de absorción en el tracto intestinal; el camino metabólico en compuestos que oxidan y no oxidan; la tasa de excreción de estos metabolitos; el nivel de los mecanismos de reducción de la metahemoglobina en el organismo, el nivel puede variar con la especie, la edad y otros factores aún no aclarados (3).

11.3.3.6 SINTOMAS

La metahemoglobinemia causa un tipo de hipoxia anémica, - esto es capacidad disminuida de transporte de oxígeno por la sangre (12).

Se presenta cianosis que va desde el gris pizarra hasta el azulado de la piel y las mucosas, el cual se vuelve muy no table con cerca de 1.5 g de metahemoglobina por 100 ml de san gre, este nivel es aproximadamente del 10 por ciento de metahemoglobina. Concentraciones de metahemoglobina que van del - 10 al 25 por ciento son toleradas sin aparente efecto de enfermedad, a no ser por la cianosis. Concentraciones alrededor de 35 a 45 por ciento, se presenta ligera disnea, dolor de ca beza y fácil fatigabilidad. Sin embargo, los niveles de metahemoglobina de alrededor del 60 por ciento, causan estupor e

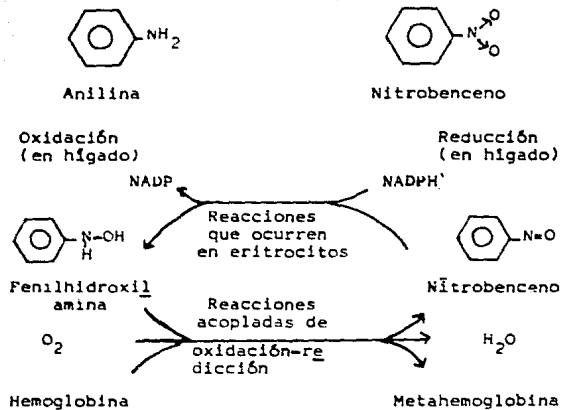


Fig. 7 El proceso de producción de metahemoglobina por compuestos aminados y nitrados. Los grupos amino son oxidados y los grupos nitro son reducidos; estas reacciones tienen lugar en el hígado (5).

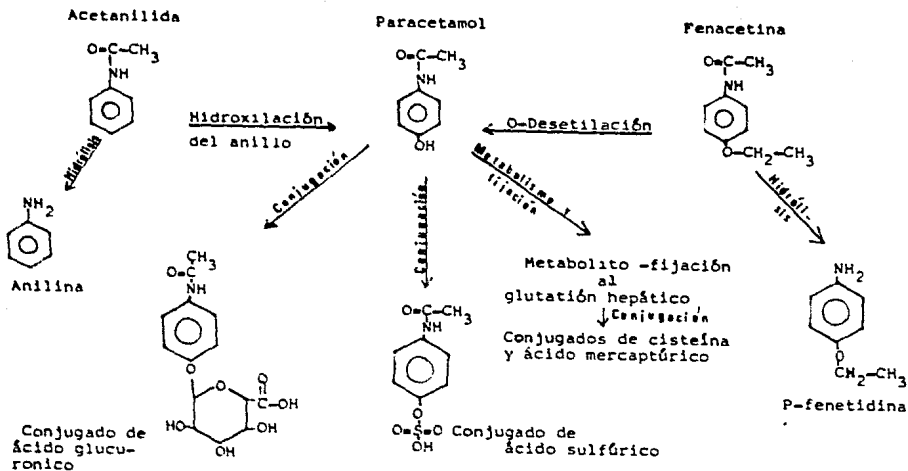


Fig. 8 Interconversión y metabolismo de acetanilida, fenacetina y paracetamol (5).

La fenacetina y acetanilida son metabolizados a paracetamol. Una pequeña cantidad de acetanilida es metabolizada a anilina que a su vez es convertida en fenilhidroxilamina que causa metahemoglobinemia. También una pequeña cantidad fenacetina es convertida en p-fenetidina que a su vez se convierte en un derivado hidroxilamínico que da lugar a la formación de metahemoglobina.

inconciencia. Cuando se presenta una metahemoglobinemia de aproximadamente 70 por ciento o más hay convulsiones y sobreviene la muerte (12).

Pacientes con metahemoglobinemia hereditaria no tratada tienen una disminuida capacidad para transportar oxígeno, debido a que tienen de 20 a 25 por ciento de metahemoglobina, presentan una moderada eritrocitosis compensatoria (12).

Sobre la relación dosis-efecto de la metahemoglobinemia secundaria, que quizás es la mayor parte, las sustancias metahemoglobinizantes tienen efectos tóxicos adicionales agudos y/o crónicos que son independientes de su acción metahemoglobinizante y generalmente más serios. Por ejemplo, la toxicidad aguda de los nitritos se debe al hecho de que estas drogas producen vasodilatación e hipotensión a niveles mucho más bajos de los que pueden producir un grado serio de metahemoglobinemia (12).

11.3.3.7 DIAGNOSTICO

En la metahemoglobinemia hereditaria debida a deficiencia de la NADH-diaforasa, el examen de sangre revela que del 8 al 40 por ciento de la hemoglobina está en forma oxidada. La sangre tiene un color achocolatado obscuro. El análisis de la NADH-metahemoglobina reductasa, revela que la actividad enzimática es de menos de un 20 por ciento de lo normal. La actividad de la NADH-diaforasa es normal, en la metahemoglobine

mia tóxica (25, 26).

La cianosis debida a metahemoglobinemia se debe diferenciar de la cianosis por enfermedades cardiacas o pulmonares y de la metahemoglobinemia hereditaria por hemoglobinas M. La historia familia ayuda a diferenciar de metahemoglobinemia hereditaria por deficiencia de la NADH-metahemoglobina reductasa de la debida a las hemoglobinas M. En la deficiencia de NADH-diaforasa, la incubación de la sangre con pequeñas cantidades de azul de metileno da una rápida reducción de la metahemoglobina; en la metahemoglobinemia M tal reducción no se realiza (41).

En el caso de la metahemoglobinemia adquirida, la cianosis es de origen reciente y se requiere de una historia cuidadosa, para saber cuál es el origen, si es por exposición a un fármaco o a un producto químico; en la metahemoglobinemia hereditaria se descubre una historia de cianosis de largo tiempo (41).

Para evaluar la concentración de metahemoglobina, se realiza un análisis espectrofotométrico por el método de Evelyn y Malloy (6, 22).

II.3.3.8 TRATAMIENTO

Sólo que se llegue a un grado incapacitante, de un 35 por ciento o más de metahemoglobina usualmente no es necesario

tratamiento alguno. Si la metahemoglobinemia es causada por agentes exógenos la cianosis desaparece espontáneamente al cesar la exposición, a medida que los sistemas reductores realizan sus funciones (12).

Para casos extremadamente graves es útil la transfusión sanguínea y la administración de oxígeno. La transfusión sanguínea no solamente reemplaza a la hemoglobina inactiva con hemoglobina activa sino que también suprime parte del agente tóxico circulante en la metahemoglobinemia secundaria (11, 12).

El ácido ascórbico ha sido utilizado con éxito para reducir el grado de metahemoglobinemia moderadamente grave (cincuenta por ciento), actúa como reductor directo; es oxidado - dando ácido dehidroascórbico (13, 11).

El glutati6n (GS-SG) es un agente reductor efectivo aunque clínicamente no ha sido utilizado (12).

La terapéutica con antídotos específicos se basa en catalizar los mecanismos reductores enzimáticos intraeritrocíticos fisiológicos. El agente eficaz es el azul de metileno (12).

El azul de metileno produce la reducción de la metahemoglobina y es un antídoto efectivo contra la metahemoglobinemia. La forma activa, azul de leucometileno se forma por la reducción del azul de metileno en los tejidos; la reacción se acopla con la oxidación de sustancias como NADH. El leucometileno se reoxida con la reducción de metahemoglobina (fig. 9) o indirectamente con la reducción y oxidación de glutati6n -

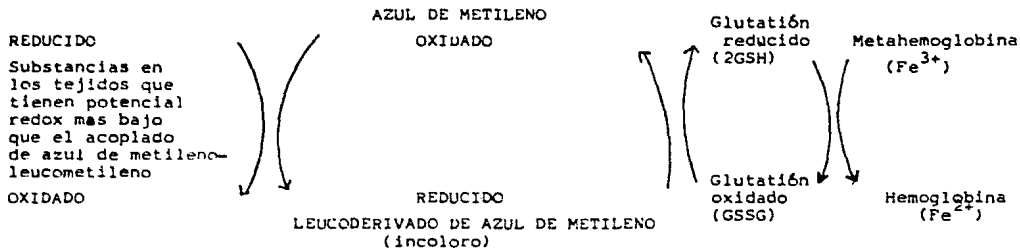


Fig. 10 Sistema de oxidaci6n-reducci6n que interviene en la reducci6n de la metahemoglobina al administrar azul de metileno (5). El azul de leucometileno se reoxida dando azul de metileno, y esta reacci6n se acopla indirectamente por la reducci6n y oxidaci6n intermedia de glutati6n.

(fig. 10) (5, 17).

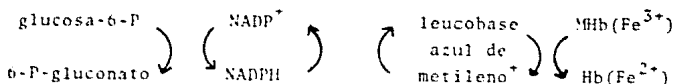


Fig. 9. La leucobase se reoxida dando azul de metileno y esta reacción se acopla directamente con la reducción de metahemoglobina (17).

En dosis grandes, el azul de metileno puede formar metahemoglobina y en estas condiciones también puede producir hemólisis y depresión del sistema nervioso central (5, 12).

La aplicación terapéutica del azul de metileno en la metahemoglobinemia, consiste en la aplicación de 5 a 6 mg/kg - por vía oral o para acción más rápida, 1 a 2 mg/kg por vía intravenosa (12).

La metahemoglobinemia hereditaria crónica por deficiencia del sistema enzimático del eritrocito que no reduce metahemoglobina puede tratarse con azul de metileno, 100 a 300 mg/día y ácido ascórbico de 300 a 500 mg/día, por vía oral (5).

La riboflavina ha sido utilizada en algunos casos de metahemoglobinemia congénita, dando como resultado la disminución de la metahemoglobinemia (23).

III. HIPOTESIS

La presencia de agentes oxidantes de la hemoglobina pueden propiciar el aumento de la metahemoglobina, superior al 24 que se reporta en la literatura, en un grupo que se encuentra expuesto a ellos (5, 34).

IV. OBJETIVO

1. Montaje y estandarización de la prueba para la cuantificación de metahemoglobina en sangre.
2. Detección de concentraciones de metahemoglobina en la población estudiantil del área agropecuaria y química (Q.F.B.) de la F.E.S.-C., que pueden provocar signos ligeros o severos de cianosis que pueden pasar desapercibidos al diagnóstico médico, pero no a las pruebas de laboratorio.
3. Realizar la cuantificación de metahemoglobina en pacientes con diferentes enfermedades que acuden al Hospital del ISSSTE, que se localiza en la zona norte de la ciudad de México.

V. PARTE EXPERIMENTAL

V.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se obtuvieron 179 muestras de sangre por punción venosa; de las cuales corresponden 32 a estudiantes de Q.F.B., 52 a estudiantes de 1. Agr., 43 a estudiantes de M.V.Z. y 52 pacientes del Hospital 10. de Octubre del ISSSTE.

Se decidió trabajar con el grupo de pacientes de hospital, ya que se trata de una población heterogénea, en la que se pueden escoger pacientes anémicos y no anémicos y determinar en ellos cómo afectaba la metahemoglobina.

Por otro lado no se consideró oportuno tomar una segunda muestra a estos pacientes ya que se trata de una prueba ciega y se estaba muestreando al azar una población en la que sólo se tomaron en cuenta dos características, sexo y concentración de hemoglobina.

Toma de muestra.

Se colectaron 3 ml de sangre por punción venosa y se depositan en un tubo que contiene 0.2 ml de EDTA al 5%.

V.2 DETERMINACION DE METAHEMOGLOBINA

Principio. La prueba se fundamenta en que la metahemoglobina presenta una absorción máxima a 630 nm, la cual desaparece al agregar cianuro de sodio (NaCN) y se transforma en ciano metahemoglobina. En otra alícuota toda la hemoglobina se convierte en metahemoglobina con el agregado de ferricianuro de potasio. La absorbancia de esta solución se mide también a 630 nm antes y después de agregar cianuro, como medida de la cantidad total de hemoglobina (6).

Reactivos.

Amortiguador de fosfatos, 0.06 M, pH 6.6. Disolver 1.9 g de Na_2HPO_4 anhidro y 2.72 g de KH_2PO_4 anhidro, en agua, en un matraz volumétrico de 500 ml.

Amortiguador de fosfatos 0.016 M, pH 6.6 Diluir el amortiguador 0.06 M de 1:4.

Ferricianuro de potasio, solución acuosa al 20%. Disolver 20 g de ferricianuro potásico, en un matraz volumétrico de 100 ml.

Cianuro de sodio, solución acuosa al 10%. Disolver 10 g de cianuro de sodio en un matraz volumétrico de 100 ml.

Triton X-10

Procedimiento.

1. Se tomaron 0.2 ml de sangre y se le añaden 10 ml de amor

tiguador de fosfatos 0.016 M, mezclar.

- 2.- Se agregan 3 gotas de triton, mezclar por inversión y de jarlo reposar hasta que la hemólisis sea completa.
- 3.- De la solución hemolizada tomar una alícuota de 3 ml a la cual se mide la absorbancia a 630 nm contra un blanco del amortiguador de fosfatos. Esta lectura será la absorbancia A_1 .
- 4.- Agregar 3 gotas de solución de cianuro de sodio a la alícuota del paso 3, mezclar y dejar reposar 2 minutos y volver a leer a 630 nm, esta absorbancia es la A_2 .
- 5.- A otra alícuota de 3 ml del hemolizado se le agregan 3 gotas de ferricianuro de potasio y se mezcla. Leer a 630 nm, esta absorbancia es la A_3 .
- 6.- Añadir a la alícuota anterior 3 gotas de cianuro de sodio, mezclar y leer a 630 nm. Absorbancia A_4 .

Cálculo.

$$\frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4} \times 100 = \% \text{ de metahemoglobina}$$

Si los valores de las lecturas A_1 y A_2 son iguales no hay metahemoglobina.

V.3 DETERMINACION DE HEMOGLOBINA.

Principio. La hemoglobina se transforma en cianometahemoglobina mediante la adición de ferricianuro de potasio y cianuro de potasio. La densidad del color producida es directa-

mente proporcional a la cantidad de hemoglobina presente (10).

Reactivos.

Solución de Drabkin:

Ferricianuro de potasio	200 mg
Cianuro de potasio	50 mg

Disolver en un matraz aforado de 1000 ml, con agua destilada.

Procedimiento.

- 1.- En un tubo de ensayo colocar 5 ml del reactivo de Drabkin.
- 2.- Agitar la sangre para homogenizarla y con una pipeta de Shali, aspirar sangre hasta la marca 0.02 ml, limpiar la punta con una gasa y vaciar la muestra en el tubo que contiene la solución de Drabkin; lavar 2 o 3 veces la pipeta en la misma solución.
- 3.- Mezclar por inversión y dejar reposar 2 minutos.
- 4.- Leer a una longitud de onda de 540 nm, contra un blanco de diluyente de Drabkin.
- 5.- Convertir la lectura de absorbancia, a gramos de hemoglobina por medio de una curva de calibración.

Curva de calibración.

Se usan estándares de concentración que ayudan a trazar una curva de calibración que luego nos permite convertir la absorbancia en gramos de hemoglobina.

Para obtener la curva de calibración se utilizó un estándar

dar de hemoglobina (ACUAGLOBIN, Ortho Diagnostics, cuyo ensayo es de 60.4 mg por 100 ml), y se realizan diluciones del estándar.

TUBO	ESTANDAR (ml)	REACTIVO DE DRABKIN (ml)	g Hb/100 ml	A ⁵⁴⁰
1	5.0	----	15.1	0.45
2	2.5	2.5	7.5	0.21

La tabla muestra los datos que se deben graficar para obtener una curva de calibración, en la que se interpolan las absorbancias obtenidas de las muestras estudiadas.

Con sólo dos puntos se puede graficar la curva ya que las soluciones de hemoglobina siguen la ley de Beer.

V.4 ANALISIS ESTADISTICO (9).

MEDIA

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

donde: \bar{X} = media muestral
 x_i = valor de i-ésima observación
 $\sum_{i=1}^n$ = sumatoria de i hasta n
 n = tamaño de la muestra

VARIANCIA

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}{n(n-1)}$$

donde: s^2 = variancia
 x_i = valor de i-ésima observación
 $\sum_{i=1}^n$ = sumatoria de i=1 hasta n
 n = tamaño de la muestra

DESVIACION ESTANDAR

$$s = \sqrt{s^2}$$

donde: s = desviación estándar
 s^2 = variancia

RANGO

$$R = x_1 - x_s$$

donde: R = rango
 x_1 = observación con el mayor valor
 x_s = observación con el menor valor

PRUEBA DE HIPOTESIS, t de Student

$$t = \frac{\bar{X} - \mu_0}{s/\sqrt{n}}$$

donde: \bar{X} = media muestral
 μ_0 = media poblacional
 s = desviación estándar
 n = tamaño de la muestra

Tabla de análisis de la variancia en 2 sentidos

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón de variancias
Entre los grupos	$SC_{\text{entre}} = \sum_{j=1}^k \frac{T_{.j}^2}{n_j} - \frac{T_{..}^2}{N}$	$k - 1$	CM_{entre} $= SC_{\text{entre}} / (k-1)$	$R.V. = \frac{CM_{\text{entre}}}{CM_{\text{dentro}}}$
Dentro de los grupos	$SC_{\text{dentro}} = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} x_{ij}^2 - \sum_{j=1}^k \frac{(T_{.j})^2}{n_j}$	$N - k$	CM_{dentro} $= SC_{\text{dentro}} / (N-k)$	
Total	$SC_{\text{total}} = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} x_{ij}^2 - \frac{T_{..}^2}{N}$	$N - 1$		

x_{ij} = la i -ésima observación que recibe el j -ésimo tratamiento

$T_{..}$ = total de todas las observaciones

$T_{.j}$ = total de la j -ésima columna

$$N = \sum_{j=1}^k n_j$$

VI. RESULTADOS

VI.1 RESULTADOS DE LOS ESTUDIANTES QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO.

Tabla 3. Concentraciones de metahemoglobina, hemoglobina y sexo.

n	MetaHb %	Hb g/100ml	sexo	n	MetaHb g/100ml	sexo
1	2.8	9.0	F	17	6.41	F
2	1.4	14.0	F	18	5.55	F
3	6.25	15.0	F	19	5.55	F
4	3.96	13.0	F	20	4.23	F
5	5.12	14.0	F	21	7.14	F
6	2.73	14.0	F	22	7.14	F
7	6.36	13.0	F	23	2.60	M
8	6.77	14.0	F	24	0.0	M
9	7.14	16.0	F	25	2.24	M
10	3.77	16.0	F	26	2.77	M
11	5.5	16.0	F	27	3.57	M
12	4.38	17.0	F	28	4.08	M
13	1.96	15.0	F	29	3.78	M
14	4.62	14.0	F	30	3.03	M
15	6.25	14.0	F	31	4.76	M
16	6.12	15.0	F	32	4.83	M

M: sexo masculino

F: sexo femenino.

El grupo está integrado por 32 personas, de las cuales - el 69% son mujeres y el 31% hombres.

La tabla 3 muestra la concentración de metahemoglobina, hemoglobina y sexo. El rango de concentración de metahemoglobina para el grupo de Q.F.B., de acuerdo al análisis estadístico realizado con los datos de la tabla 3 es de 0.0 - 7.14% y el promedio de 4.4%.

Análisis estadístico.

$\bar{X} = 4.4\%$	Promedio
$s^2 = 3.4\%$	Variancia
$s = 1.8\%$	Desviación estándar
$R = 0.0 - 7.14\%$	Rango

Tabla 4. Tabla de frecuencia de concentraciones de metahemoglobina.

Intervalo de confianza	Frecuencia (f)	Frecuencia acumulada	Frecuencia relativa
1 - 1.9	3	3	0.09
2 - 2.9	5	8	0.16
3 - 3.9	5	13	0.16
4 - 4.9	6	19	0.19
5 - 5.9	3	22	0.09
6 - 6.9	7	29	0.22
7 - 7.9	<u>3</u>	32	<u>0.09</u>
	32		1.00

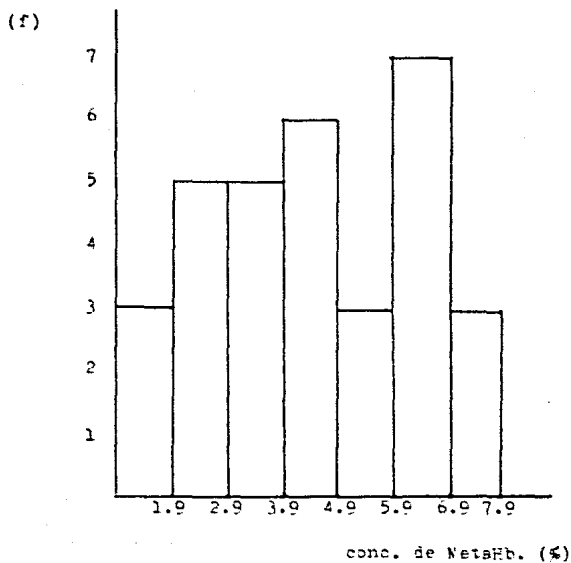
Los valores de metahemoglobina se agruparon en 7 categorías con intervalos de 0.9 unidades. La tabla 4 y la gráfica 1, muestran la distribución de frecuencia en el grupo de Q.F.B.

Tabla 5. Promedio (\bar{X}), variancia (s^2) y desviación estándar.

Sexo	n	Promedio \bar{X}	Variancia s^2	Desviación estándar s
Femenino	22	5.1	2.9	1.7
Masculino	10	3.2	1.5	1.3

Para saber si el sexo influye de alguna manera en la concentración de metahemoglobina, los resultados se trataron estadísticamente. La tabla 5, muestra el promedio, variancia y desviación estándar para cada sexo.

Gráfica 1. Diagrama de barras, frecuencia (f) vs. concentración de metahemoglobina (%). Datos de la tabla 4.



VI.2 RESULTADOS DEL GRUPO DE INGENIERIA AGRICOLA.

El grupo está formado por 52 personas; 41 de ellas son hombres y las 11 restantes son mujeres.

Tabla 6. Concentraciones de metahemoglobina, hemoglobina y sexo.

n	MetaHb	g/100ml	sexo	n	MetaHb	g/100ml	sexo
1	7.02	12.0	M	27	6.15	17.0	M
2	4.84	15.0	M	28	4.84	17.0	M
3	5.21	14.0	M	29	3.45	16.0	M
4	2.58	15.0	M	30	4.84	16.0	M
5	4.51	14.0	M	31	4.80	17.0	M
6	7.70	15.0	M	32	7.00	16.0	M
7	4.55	15.0	M	33	4.00	15.0	M
8	4.50	15.0	M	34	4.85	16.0	M
9	5.20	17.0	M	35	1.75	16.0	M
10	1.60	18.0	M	36	3.40	16.0	M
11	1.22	18.0	M	37	6.40	17.0	M
12	6.60	14.0	M	38	5.20	17.0	M
13	7.50	15.0	M	39	8.20	15.0	M
14	3.03	17.0	M	40	7.00	17.00	M
15	1.85	17.0	M	41	6.50	16.0	M
16	6.00	17.0	M	42	5.71	11.0	F
17	8.80	17.0	M	43	5.10	12.0	F
18	1.60	17.0	M	44	5.45	13.0	F
19	7.00	16.0	M	45	7.00	15.0	F
20	10.00	17.0	M	46	5.45	16.0	F
21	6.50	17.00	M	47	5.70	15.0	F
22	10.64	14.0	M	48	6.40	15.0	F
23	13.21	17.0	M	49	7.40	15.0	F
24	6.00	17.0	M	50	5.55	14.0	F
25	6.10	17.0	M	51	10.64	14.0	F
26	3.22	17.0	M	52	4.26	14.0	F

MetaHb: Metahemoglobina
Hb: Hemoglobina

F: Sexo femenino
M: Sexo masculino

En la tabla 6, se encuentran las concentraciones de meta hemoglobina, hemoglobina y sexo. El promedio de concentración de metahemoglobina es de 5.6% y el rango es de 1.2 - 13.2%.

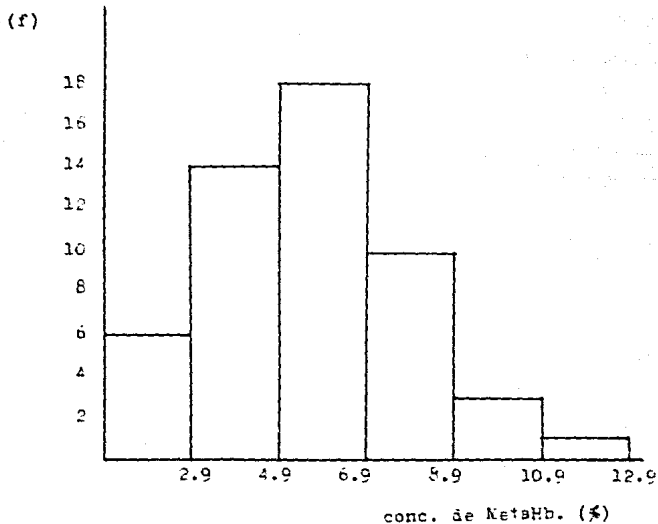
Análisis estadístico.

\bar{X} = 5.6%	Promedio
s^2 = 5.7%	Variación
s = 2.4%	Desviación estándar
R = 1.2 - 13.2%	Rango

Tabla 7. Tabla de frecuencias de concentraciones de metahemoglobina.

Intervalo de confianza	Frecuencia (f)	Frecuencia acumulada	Frecuencia relativa
1 - 2.9	6	6	0.11
3 - 4.9	14	20	0.26
5 - 6.9	18	38	0.54
7 - 8.9	10	48	0.20
9 - 10.9	3	51	0.06
11 - 12.9	1	52	0.02
	52		0.99

Gráfica 2. Diagrama de barras, frecuencia (f) vs. concentración de metahemoglobina (%), con datos de la tabla 7.



Los valores de metahemoglobina se agruparon en 6 intervalos de confianza, con amplitud de 1.9 unidades. La tabla 7 y la gráfica 2, muestran la distribución de frecuencia en el grupo de Ingeniería Agrícola.

Para saber si el sexo influye de alguna forma en la concentración de metahemoglobina, los resultados se trataron estadísticamente. La tabla 8, muestra los promedios, variancia y desviación estándar por sexo.

Tabla 8. Promedio (\bar{X}), variancia (s^2) y desviación estándar (s) por sexo.

Sexo		Promedio ‡	Variancia ‡	Desviación estándar ‡
Femenino	11	6.24	2.8	1.7
Masculino	41	5.5	6.5	2.6

VI.3 RESULTADOS DEL GRUPO DE ESTUDIANTES DE MEDICINA
VETERINARIA.

El grupo está integrado por 43 personas, 28 de ellas son de sexo masculino y las 15 restantes de sexo femenino.

Tabla 9. Concentraciones de metahemoglobina, hemoglobina y sexo.

n	MetaHb %	Hb g/100 ml	sexo	n	MetaHb %	Hb g/100 ml	sexo
1	6.06	18.0	M	22	5.50	16.0	M
2	5.35	17.0	M	23	8.10	18.0	M
3	1.58	16.0	M	24	10.94	18.0	M
4	4.22	18.0	M	25	5.0	17.0	M
5	10.70	18.0	M	26	4.92	18.0	M
6	4.50	15.0	M	27	7.70	18.0	M
7	5.26	15.0	M	28	5.00	17.0	M
8	5.73	17.0	M	29	10.71	12.0	F
9	3.27	17.0	M	30	5.66	17.0	F
10	4.76	17.0	M	31	4.80	16.0	F
11	5.22	17.0	M	32	4.08	15.0	F
12	4.03	17.0	M	33	6.48	17.0	F
13	1.75	16.0	M	34	4.76	16.0	F
14	1.72	16.0	M	35	3.85	15.0	F
15	4.69	18.0	M	36	6.60	14.0	F
16	8.40	16.0	M	37	5.26	15.0	F
17	7.46	18.0	M	38	4.84	17.0	F
18	5.90	17.0	M	39	7.69	16.0	F
19	4.41	17.0	M	40	4.25	16.0	F
20	7.40	17.0	M	41	8.20	16.0	F
21	5.40	18.0	M	42	7.02	15.0	F
				43	7.55	17.0	F

MetaHb: Metahemoglobina
Hb: Hemoglobina

F: Sexo femenino
M: Sexo masculino

Análisis estadístico

\bar{X} = 5.8%	Promedio
s^2 = 4.5%	Variación
s = 2.1%	Desviación estándar
R = 1.6 - 10.9%	Rango

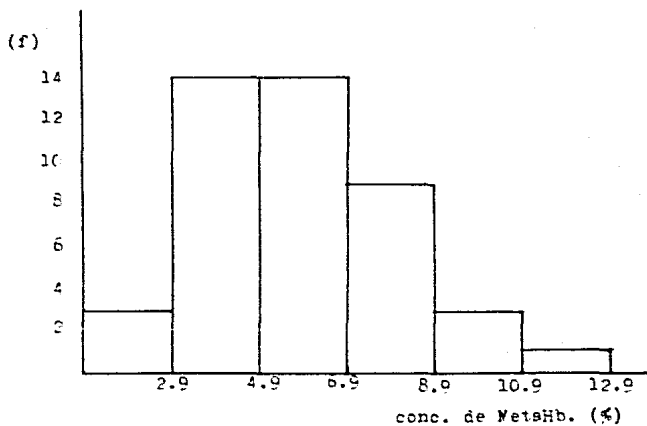
La tabla 9 muestra los resultados de concentración de metahemoglobina, hemoglobina y sexo.

El análisis estadístico da como resultado una concentración promedio de metahemoglobina de 5.8% y un rango de 1.6 - 10.9%.

Tabla 10. Tabla de frecuencias de las concentraciones de metahemoglobina.

Intervalo de confianza	Frecuencia (f)	Frecuencia acumulada	Frecuencia relativa
1 - 2.9	3	3	0.07
3 - 4.9	14	17	0.52
4 - 6.9	14	31	0.32
7 - 8.9	9	40	0.21
9 - 10.9	2	42	0.05
11 - 12.9	1	43	0.02
	<u>43</u>		<u>0.99</u>

Gráfica 3. Diagrama de barras, frecuencia (f) vs. concentración de metahemoglobina (%). Datos de la tabla 10.



Los resultados se agruparon en 6 intervalos de confianza con una amplitud de 1.9 unidades. La tabla 10 y la gráfica 5, representan la frecuencia de las concentraciones de metahemoglobina.

Para saber si el sexo influye de alguna manera en la concentración de metahemoglobina, los resultados se tratan estadísticamente. La tabla 11 muestra los promedios variancia y desviación estándar por sexo.

Tabla 11. Promedio (\bar{X}), variancia (s^2) y desviación estándar (s) por sexo.

Sexo	n	Promedio ‡	Variancia ‡	Desviación ‡ estándar
Femenino	14	6.12	8.34	2.90
Masculino	29	5.50	5.10	2.25

VI.4 RESULTADOS DEL GRUPO DE PACIENTES DEL HOSPITAL 10. DE OCTUBRE DEL ISSSTE.

El grupo está integrado por 52 sujetos; 37 son mujeres y 15 hombres. En la tabla 12 se encuentran el sexo, concentración de hemoglobina y la concentración de metahemoglobina de cada uno de los integrantes del grupo.

Tabla 12. Concentraciones de metahemoglobina, hemoglobina y sexo.

n	MetaHb %	Hb g/100 ml	sexo	n	MetaHb %	Hb g/100 ml	sexo
1	6.66	14.0	F	20	6.35	15.0	F
2	17.50	7.0	F	21	13.33	10.0	F
3	3.92	14.0	F	22	6.66	11.0	F
4	5.45	12.0	F	23	5.88	15.0	F
5	15.38	14.0	F	24	5.17	15.0	F
6	4.35	11.0	F	25	5.75	17.0	F
7	4.86	14.0	F	26	5.36	16.0	F
8	8.75	14.0	F	27	6.66	16.0	F
9	7.32	11.0	F	28	5.00	16.0	F
10	11.65	15.0	F	29	6.00	16.0	F
11	5.33	17.0	F	30	2.00	10.0	F
12	0.00	14.0	F	31	9.37	16.0	F
13	2.13	17.0	F	32	7.43	14.0	F
14	6.41	13.0	F	33	5.55	13.0	F
15	6.25	16.0	F	34	6.12	12.0	F
16	20.00	11.0	F	35	7.54	14.0	F
17	7.14	13.0	F	36	4.16	14.0	F
18	4.00	14.0	F	37	3.06	12.0	F
19	4.82	8.0	F	38	8.11	15.0	M

continúa...

n	MetaHb %	Hb g/100 ml	sexo	n	MetaHb %	Hb g/100 ml	sexo
39	7.32	14.0	M	46	17.79	10.0	M
40	7.17	16.0	M	47	6.52	15.0	M
41	4.47	17.0	M	48	4.88	13.0	M
42	7.69	9.0	M	49	3.10	17.0	M
43	2.40	16.0	M	50	15.38	9.0	M
44	5.77	18.0	M	51	14.52	17.0	M
45	3.95	13.0	M	52	8.33	11.0	M

MetaHb: Metahemoglobina

F: sexo femenino

Hb: Hemoglobina

M: sexo masculino

Análisis estadístico

$$\bar{X} = 7.1\%$$

Promedio

$$s^2 = 17.5\%$$

Variancia

$$s = 4.2\%$$

Desviación estándar

$$R = 0.0 - 20.00\%$$

Rango

De acuerdo al análisis estadístico se tiene una concentración promedio del 7.1% y rango de 0.0 - 20.00% de metahemoglobina.

Los resultados se agrupan en 7 intervalos de confianza, - con una amplitud de 2.9 unidades. La tabla 13 y la gráfica 4, muestran la distribución de frecuencia de las concentraciones de metahemoglobina.

Para saber si de alguna forma el sexo influye en la concentración de metahemoglobina, los resultados se analizan estadísticamente. La tabla 14, muestra el promedio, variancia y - desviación estándar por sexo.

Gráfica 4. Diagrama de barras, frecuencia (f) vs. concentración de metahemoglobina (i). Datos de la tabla 13.

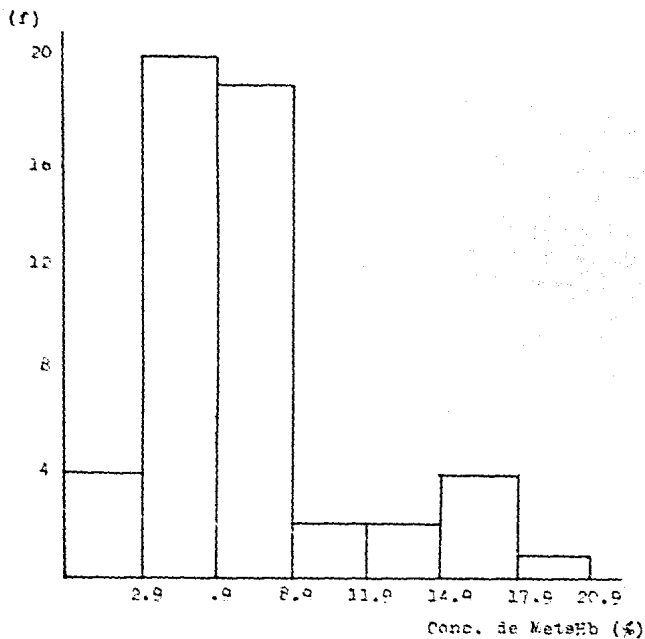


Tabla 13. Tabla de frecuencias de concentraciones de metahemoglobina.

Intervalo de confianza	Frecuencia (f)	Frecuencia acumulada	Frecuencia relativa
0 - 2.9	4	4	0.07
3 - 5.9	20	24	0.38
6 - 8.9	19	43	0.36
9 - 11.9	2	45	0.04
12 - 14.9	2	47	0.04
15 - 17.9	4	51	0.08
18 - 20.9	1	52	0.02
	52		0.99

Tabla 14. Promedio (\bar{X}), variancia (s^2), desviación estándar por sexo.

Sexo	n	Promedio \bar{X}	Variancia s^2	Desviación estándar s
Femenino	37	6.8	16.4	4.0
Masculino	15	7.8	21.1	4.6

Tabla 15. Promedio (\bar{X}), variancia (s^2), desviación estándar y rango (R) de los cuatro grupos estudiados.

	Q.F.B. ‡	I. AGR. ‡	M.V.Z. HOSP. 10. DE OCT. ‡	
\bar{X}	4.4	5.6	5.8	7.1
s^2	3.4	5.7	5.4	17.5
s	1.8	2.4	2.1	4.2
R	0.0 - 7.14	1.2 - 15.2	1.6 - 10.9	0.0 - 20.0

Q.F.B.: Químico Farmacéutico Biólogo

I. AGR.: Ingeniero Agrícola

M.V.Z.: Médico Veterinario Zootecnista

HOSP. 10. DE OCT.: Hospital 10. de Octubre del ISSSTE.

La tabla 15 muestra los promedios, variancia, desviación estándar y rango de los cuatro grupos estudiados. Se observa que el grupo con más alta concentración de metahemoglobina es el grupo del Hospital 10. de Octubre que tiene 7.1% y también presenta el más alto rango de metahemoglobina que va de 0.0 - 20.0%. El grupo con menor concentración de metahemoglobina es el de Q.F.B., con un 4.4% de metahemoglobina y rango de 0.0 - 7.14 de metahemoglobina.

Tabla 16. Prueba de hipótesis por la t de Student, para cada uno de los grupos.

	n	α (%)	t_{α} (n-1)	t_{cal}
Q.F.B.	52	5	1.9675	10.9
I. AGR.	52	5	1.6759	13.9
M.V.2.	43	5	1.6839	14.5
Hosp. 1o. Oct.	52	5	1.6759	10.1

t_{α}
(n-1) : valor de tablas

t_{cal} : valor calculado

Para comprobar que efectivamente se trataba de promedios diferentes, se realizó el análisis estadístico por medio de la t de Student para cada uno de los grupos y se encontró que los promedios obtenidos son diferentes al 2% reportado en la literatura.

Para determinar si las concentraciones promedio de metahemoglobina son iguales en los cuatro grupos estudiados se realizó el análisis de la variancia y el resultado es que la media de los cuatro grupos es igual. Los resultados se muestran en la tabla 17.

Con los resultados de las tablas 5, 6, 9 y 12 se obtiene un promedio general de metahemoglobina que es del 5.9%.

Tabla 17. Análisis de la Variancia.

\bar{n}	f	F	R.V.
12	1	4.15	1.65

F.: Valor teórico R.V.: Razón de variancias, valor calculado.

VII. DISCUSION

La concentración de metahemoglobina tiende a través de enzimas eritrocitarias a ser de 0 y hasta de un 2% considerándose como normal. La presencia de agentes oxidantes en la sangre o sales disueltas en el agua potable y productos alimenticios, así como condiciones ambientales desfavorables, esto es que se encuentren altas concentraciones de contaminantes como el ozono, herbicidas entre otros, éstos pueden inducir un aumento en la concentración de la metahemoglobina.

Por esto el motivo de nuestro estudio fue determinar y comparar la concentración de metahemoglobina en 4 grupos: 1) estudiantes Químico Farmacéutico Biólogo, que sería el grupo control, se creía que su concentración de metahemoglobina no excedía el 2% reportado en la literatura como normal. 2) Estudiantes de Ingeniería Agrícola y 3) estudiantes de Medicina Veterinaria que por su actividad están en contacto con sustancias, como compuestos nitrogenados, que causan metahemoglobinemia y 4) un grupo de pacientes del Hospital 1o. de Octubre.

Los valores normales de metahemoglobina son del 2% y co-

mo observamos en la tabla 15, las concentraciones de este compuesto se encuentran por arriba del normal reportado.

Para comprobar que efectivamente se trataba de promedios diferentes, se llevó a cabo el análisis estadístico por medio de la *t* de Student, tabla 16, y se encontró que efectivamente se trataba de promedios diferentes, al 2%. Por lo que puede decirse que estas poblaciones están constantemente expuestas a agentes oxidantes de la hemoglobina.

El grupo de Q.F.B., que sería el control se vio afectado teniendo un aumento en la concentración de metahemoglobina - que llegó hasta un 7.4%, encontrándose sólo 3 miembros del grupo con la concentración normal. Aunque ellos en sus prácticas no están en contacto con sustancias metahemoglobinizantes, viven en la zona urbana del D.F., zona norte, que tiene un alto grado de contaminación, por lo que están en contacto con sustancias inductoras de metahemoglobina, pero al salir al área suburbana, disminuyen estas concentraciones y por ende disminuyen los niveles de metahemoglobina, mientras se elimina el agente oxidante.

La población de I. Agr., presenta una concentración de metahemoglobina de 5.6%, ya que están expuestos en algunas de sus prácticas de campo a fertilizantes y pesticidas, para la aplicación de estas sustancias deben permanecer un tiempo considerable en los cultivos, teniendo que regresar a revisarlos varias veces, por lo cual el tiempo de exposición es alto, -

dando como resultado metahemoglobinemia.

Los estudiantes de M.V.Z. con una concentración de 5.8% de metahemoglobina, están expuestos a sustancias que son utilizadas como desinfectantes y desparasitantes y también compuestos nitrogenados, por lo cual se tiene un aumento en la concentración de metahemoglobina. La población de hospital presenta la concentración más alta, 7.1%, debido a que puede estar consumiendo medicamentos con grupo amino, como un analgésico, fenacetina por ejemplo, además ellos se encuentran viviendo al norte de la ciudad de México donde se tiene una alta concentración de contaminantes, uno de ellos el ozono, lo que hace que sus niveles de metahemoglobina se vean incrementados.

Se compararon los cuatro grupos, para determinar si sus concentraciones promedio eran iguales, esto se hizo realizando el análisis de la variancia, dando como resultado que la media de los cuatro grupos es igual (tabla 17). Esto significa que aun cuando están en presencia de los mismos contaminantes, sin embargo, por encontrarse aproximadamente en la misma área de influencia, sí están expuestos en un momento dado a concentraciones semejantes de agentes oxidantes, que en el caso de los pacientes de hospital se agudiza en algunos de ellos, por la utilización de medicamentos mientras que los grupos de estudiantes se presenta un movimiento de zonas de mayor contaminación, a zonas de mayor aereación y menor contaminación en el área suburbana.

El promedio general encontrado es de 5.9% de metahemoglobina que difiere al reportado en la literatura que es del 2%. Si comparamos este resultado con el 3% de metahemoglobina que se reporta en casos en los que los mecanismos reductores, el principal la diaforasa, es deficiente, afirmaríamos que las personas tienen deficiencia de la enzima. Esto no lo podemos afirmar categóricamente ya que no se hizo la determinación de la diaforasa, pues su costo es muy elevado, pero podría haber la posibilidad de una depresión de la enzima que sólo se reflejaría cuando nuestro paciente se encuentre con elevadas -- concentraciones de oxidante.

El aumento en la concentración de metahemoglobina, puede considerarse como debido a la exposición a sustancias que oxidan al hierro ferroso a hierro férrico, entre estos compuestos que pueden causar metahemoglobinemia se encuentran los nitratos, nitratos, algunos analgésicos, productos químicos como la anilina, cloratos, etc.

Se buscó la relación entre concentración de metahemoglobina y hemoglobina, para ver si cuando encontrábamos mayor cantidad de metahemoglobina, disminuía la de hemoglobina, pero no fue así; la concentración total de hemoglobina no se ve afectada por un aumento de la metahemoglobina, ya que en sí la metahemoglobina es una hemoglobina oxidada. Se realizó el estudio estadístico de correlación lineal, con base en los resultados de las tablas 3, 6, 8 y 12, dando un coeficiente de correlación de 0.075, que es muy bajo, lo que indica que no

existe relación entre anemia y concentración de metahemoglobina. Por lo cual las personas que presentan anemia no necesariamente deben tener concentración elevada de metahemoglobina que agravaría más el problema de hipoxia que presentarían los pacientes anémicos.

En las tablas 5, 8, 11 y 14 se estudian los resultados - en base al tipo de sexo, de cada uno de los grupos. Las tablas 5, 8 y 11 corresponden respectivamente a Q.F.B., I. Agr. y - M.V.Z., donde se observa que la concentración promedio para - el sexo femenino es mayor que para el sexo masculino. Esto es debido a que la población estudiantil masculina que se muestra lleva a cabo una actividad deportiva mayor que la población femenina y además no acumula sustancias oxidantes en tejido adiposo ya que con el ejercicio constante tienen una mayor velocidad de desintoxicación.

En el grupo del hospital tabla 14, la situación es a la inversa, los varones tienen concentración más elevada que las mujeres, pero su concentración se encuentra dentro del rango de los grupos antes mencionados. En cambio el nivel para mujeres es más alto que en cualquier otro grupo. aquí se encuentra un gran número de amas de casa que se exponen en muchas - ocasiones a hipoclorito y fungicidas, que son muy usados en el hogar. Estos son eliminados más lentamente ya que se acumulan en tejido adiposo, dando como resultado metahemoglobinemia.

Para saber si las diferencias antes mencionadas son o no

significativas, se hizo la comparación en base al tipo de sexo y por grupos observándose que las diferencias existentes no son significativas, lo que quiere decir es que el tipo de sexo no influye en la concentración de metahemoglobina.

Los niveles de metahemoglobina encontrados aquí aunque son más altos que el 2% normal o el 3% en los casos de deficiencia de diaforasa, no llegan a niveles en que se presente cianosis y mucho menos a concentraciones que lleguen a causar incapacidad, que van desde un 35% hasta un 45%. El grupo que presenta un mayor número de personas con concentración de metahemoglobina superior al 10%, que es el nivel al que se empiezan a tener signos de cianosis, es del hospital, con sólo 7 personas, tabla 13. En el grupo de Q.F.B. la concentración máxima es de 7.1%, tabla 3; para I. Agr. sólo 4 personas tienen más del 10% de metahemoglobina, tabla 7, y el grupo de M.V.Z. con sólo 3 personas con concentración mayor al 10%, tabla 10. Estos incrementos se deben a que tienen susceptibilidad incrementada a los oxidantes de la hemoglobina y se están condicionando a niveles más altos de metahemoglobina, sin signos visibles de cianosis.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

VIII. CONCLUSIONES

- 1.- Las concentraciones de metahemoglobina obtenidas en la población general son más altas que las reportadas en la literatura.
- 2.- Los cuatro grupos están igualmente expuestos a agentes oxidantes que afectan a la hemoglobina. Sin embargo, de acuerdo a los resultados algunos grupos son más afectados que otros por las condiciones de trabajo y la susceptibilidad individual.
- 3.- En personas con anemia, las concentraciones de metahemoglobina elevadas no tienen relación con la cantidad de hemoglobina presente en estos estudios.
- 4.- La concentración de metahemoglobina aun cuando es variable en relación al sexo no existe diferencia significativa entre ellos. Por lo que el sexo no influye en la concentración de metahemoglobina.
- 5.- La concentración de metahemoglobina en el grupo estudiado es del 5.9%.

- 6.- Aun cuando las personas no presenten signos y síntomas, relacionados con metahemoglobinemia, ésta puede ponerse de manifiesto a través de la cuantificación de metahemoglobina en sangre.

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Beutler, E. and Baluda, M.C. Methemoglobin Reduction. - Studies of the Interaction between Cell Populations and of the Role of Methylene Blue. *Blood*. 22:323; 1969.
2. Board, P.G. and Pidcock, M.E. Methaemoglobinaemia Resulting from Heterozygosity from Two NADH-Methaemoglobin - Reductase Variants: Characterization as NADH-Ferricyanide Reductase. *British. J. Hematol.* 47:361; 1981.
3. Bodonsky, O. Methemoglobinemia and Methemoglobin-Producing Compounds. *Pharmacol. Rev.* 3:144; 1951.
4. Bowman W.C., Rand M.J. y West G.B. *Farmacología. Jims.* - Barcelona. 1970.
5. Bowman W.C. y Rand M.J. *Farmacología, Bases Bioquímicas y Patológicas, Aplicaciones Clínicas. Interamericana.* - México. 1984.
6. Císcar F. y Ferraras P.V. *Diagnóstico Hematológico Laboratorio y Clínica* 11. 3a. Ed. *Jims.* Barcelona. 1972.
7. Cohen R.J., Sachs J.R. et al. Methemoglobinemia Provoked by Malarial Chemoprophylaxis in Vietnam. *N. Engl. J. Med.* 279:1127; 1968.
8. Comly H.H. Cyanosis in Infants Caused by Nitrates in Well

- Water. J.A.M.A. 129:112; 1945.
9. Daniel W.W. Bioestadística, Bases para el Análisis de las Ciencias de la Salud. 1a. Ed. Limusa. México. 1984.
 10. Davidson I. y Henry J.B. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. 6a. Ed. Salvat. Barcelona. 1978.
 11. Dreisbach R.H. Manual de Toxicología Clínica Prevención, Diagnóstico y Tratamiento. 5a. Ed. El Manual Moderno. México. 1984.
 12. Drill. Farmacología Médica. 2a. Ed. La Prensa Médica Mexicana. México. 1978.
 13. Fabrè R. La Toxicología. Oikos-Tau. España. 1972.
 14. Finch C.A. Methemoglobinemia and Sulfhemoglobinemia. N. Engl. J. Med. 259:490; 1948.
 15. Geffner M.E., Powars D. and Choctaw T.W. Acquired Methemoglobinemia. West J. Med. 134:7; 1981.
 16. Gibson Q.H. and Harrison D.C. Familial Idiopathic Methemoglobinemia. Five Cases in One Family. Lancet. 253:941; 1947.
 17. Goldstein A, Aromw L. y Kalman S.M. Farmacología. 2a. Ed. Limusa. México. 1979.
 18. Goth A. Farmacología Médica. 11a. ed. Ed. Doyma. México. 1984.
 19. Guyton C.A. Tratado de Fisiología Médica. 6a. ed. Ed. Interamericana. México. 1984.
 20. Hegesh E. and Avron M. The Enzymatic Reduction of Ferric hemoglobin. Biochim. Biophys. Acta. 146:91; 1967.
 21. Harper A, Rodwell W.V. y Mayes A.P. Manual de Química Fisiológica. 6a. ed. Ed. El Manual Moderno. México. 1978.

22. Henry R., Cannon D.C. y Winkilman J.W. Química Clínica. Bases y Técnicas. 2a. ed. Ed. Jims. Barcelona. 1980.
23. Hirano M., Matsuki T. et al. Congenital Methaemoglobine-mia due to NADH Methaemoglobin Reductase Deficiency: Suc-cessful Treatment Oral Riboflavin. British J. of Hematol. 47:353; 1981.
24. Jaffé E.R., Newmann G., Rothberg H. et al. Heredytary Me-temoglobinemia with and without Mental Retardation. A - Study of Three Families. Am. J. Med. 41:42; 1966.
25. Jaffé E.R. Hereditary Methemoglobinemias Associated with Abnormalities in the Metabolism of Erythrocytes. Am. J. Med. 41:786; 1966.
26. Kaplan J.C., Nicolas A.M., Hanzlickova-Lerroux A. and -Bleuter E. A Simple Spot Screening Test for Fast Detec- - tion of Red Cell NADH-Diaphorase Deficiency. Blood. - 36:530; 1970.
27. Kassac I.J. y Gallardo T.M. Anemia por Deficiencia de -Hierro. Medicine. 9:511; 1989.
28. Kiese M. The Biochemical Production of Ferrihemoglobin -Derivates from Aromatic Amines and Mechanisms of Ferrihe - moglobin Formation. Pharmacol. Rev. 18:1091; 1966.
29. Leovell B.S. y Thorup O.A. Hematología Clínica. 4a. ed. Ed. Interamericana. México. 1978.
30. Loomis T.A. Essentials of Toxicology. 3a. ed. Ed. Lea -l Febiger. Phyladelphia. 1978.
31. Lynch J.M. Métodos de Laboratorio. 2a. ed. Ed. Interame-ricana. México. 1985.

32. Mason H.O., Van Bruggen J.T. et al. Bioquímica Médica. - 4a. ed. Ed. Interamericana. México. 1977.
33. Naranjo P. Farmacología. Reacciones Indeseables por las Drogas. La Prensa Médica Mexicana. México. 1968.
34. OMS. Criterios de Salud Ambiental 5. Nitritos, Nitratos y Compuestos de N nitroso. OPS/OMS. No. 349. 1980.
35. Peterson Hart de C. Acquired Methemoglobinemia in an Infant due to Benzocaine Suppository. N. Engl. J. Med. - 239:470; 1948.
36. Ross J.D. Deficient Activity of DPNH-dependent Methemoglobin Diaphorase in Cord Blood Erythrocytes. Blood. - 21:51; 1963.
37. Scott E.M. and Griffith I. V. The Enzymic Defect of Hereditary Methemoglobinemia: diaphorase. Biochem. Biophys. - Acta. 34:584; 1959.
38. Scott E.M. The Relation of Diaphorase of Human Erythrocytes to Inheritance of Methemoglobinemia. J. Clin. Invest. 39:1176; 1960.
39. Taketa F., Matteson K.L., Chen J.Y. and Lobnoch J.A. Methemoglobin Recution in Red Cells: Effect of a High-Oxygen Affinity Hemoglobin. Blood 55:116; 1980.
40. Thieres. Clinical Toxicology. Fifth Edition. Lea I Febiger. Phyladelphia. 1972.
41. Williams J.W. Hematología I y II. Salvat. Barcelona. 1975.
42. Roizman, C. Medicina Interna II. 9a. ed. Ed. Marín. México. 1975.