

B5000-  
DICNE

21 FNE. 1980

**UNIVERSIDAD DE MONTERREY**  
**FECHA DE DEVOLUCION**

NOV. 23 1996

El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.

Vencido el plazo, el lector pagará 1.00 peso por cada día que pase. (11-013)

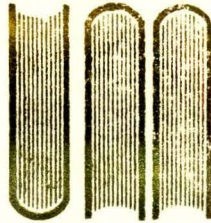
<del>16 ABR. 1982</del>	
10 MAYO 1989	
<del>12 MAYO 1989</del>	
<del>12 NOV. 1991</del>	
29 ABR. 1992	

**Biblioteca**

**VENCIMIENTO**

# UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD  
DE MONTERREY

*Clasif*  
040.54  
A 5172  
1979

*Título*

DETERMINACION DE CARBOXIHEMOGLOBINA EN  
PERSONAS FUMADORAS Y NO FUMADORAS

*folio* 801142

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL  
QUE PRESENTA

*autor*

JORGE AMIONE KURI

EN OPCION AL TITULO DE  
LICENCIADO EN QUIMICA CON ESPECIALIDAD EN  
ANALISIS CLINICOS

*No Bo  
Luzmila G. Benítez*

MONTERREY, N. L.

DICIEMBRE DE 1979

BIBLIOTECA UNIVERSIDAD DE MONTERREY

Lo que el presente trabajo significa,  
ha sido y es dedicado a :

EL, QUIEN me cuida como el  
más amoroso de los PADRES.



El presente trabajo fue realizado bajo la dirección de la señorita LAURA E. GARCIA TOVAR, Q.F.B. y fue llevado a cabo en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey.

INDICE

	<u>Página</u>
Introducción.....	1
Material y Métodos.....	6
Resultados.....	11
Discusión y Conclusiones.....	16
Resumen.....	18
Bibliografía.....	19

## INTRODUCCION

(El monóxido de carbono es un gas incoloro, inodoro, venenoso, --- prácticamente insoluble en agua y con una densidad aproximada a la del aire. No es un componente significativo de la atmósfera, - pués sólo pequeñas trazas se encuentran en ella.) Arde con flama - azul produciendo dióxido de carbono. Puede liberarse en cualquier combustión incompleta, por ejemplo, en el motor de un automóvil; en el laboratorio se obtiene por deshidratación del ácido fórmico o del ácido oxálico con ácido sulfúrico concentrado.

La Hemoglobina es la proteína conjugada contenida en los eritrocitos y tiene como función principal el efectuar el transporte de oxígeno a toda la economía. Cerca del 96 % de la molécula es proteina (Globina) y el resto es un componente coloreado, el Heme, que



es un complejo de Hierro ( $Fe^{++}$ ) y protoporfirina. La molécula de hemoglobina consta de una globina y de cuatro grupos Heme. Estos grupos se encuentran localizados en la superficie de la molécula facilitando así la unión con el oxígeno, que se efectuará con el fierro contenido en el Heme. El oxígeno, al tener contacto con la hemoglobina en los pulmones, mediante un proceso de difusión, forma un compuesto llamado Oxihemoglobina, que es fácilmente disociable en un medio de baja presión de oxígeno.)

(El monóxido de carbono, al igual que el oxígeno, es capaz de unirse a la hemoglobina. La unión resulta en el mismo sitio que con el oxígeno, sólo que la afinidad de la hemoglobina por el monóxido de carbono es 218 veces mayor que por el oxígeno (1). El compuesto resultante es la Carboxihemoglobina, la cual es muy estable y posee un color rojo cereza. La concentración de la carboxihemoglobina formada, es proporcional al tiempo de exposición así como a la concentración del monóxido de carbono en el aire inspirado.)

Cuando se respira aire con monóxido de carbono, se presenta una competencia entre éste y el oxígeno por la hemoglobina. Por ejemplo, una presión de monóxido de carbono 218 veces menor que de oxígeno en el aire inspirado, dará como resultado una concentración de carboxihemoglobina y oxihemoglobina igual.

(La hemoglobina unida al monóxido de carbono ya no puede unirse al oxígeno hasta que éste sea desplazado. El efecto venenoso de la carboxihemoglobina es debido esencialmente a la falta de oxígeno que acarrea su formación. Por lo tanto, a medida que aumente la formación de carboxihemoglobina, mayor será la hipoxia tisular.

Se sabe que un paciente anémico puede sobrevivir sin problemas en estado de reposo, aún cuando su hemoglobina disminuya en un 50 % de su valor normal; sin embargo, un paciente con un 50 % de carboxihemoglobina se encuentra gravemente lesionado y con pocas posibilidades de sobrevivir. Lo que sucede es que la unión del monóxido de carbono con el fierro de un grupo Heme, hace que los grupos restantes de la molécula, incrementen su afinidad por el oxígeno, evitando que éste sea liberado con facilidad en los tejidos, observándose así una desviación en la curva de disociación del oxígeno.

Los tejidos más sensibles a la disminución de la tensión de oxígeno (extracelularmente) serán los primeros en manifestar alteraciones en caso de envenenamiento por monóxido de carbono. El Sistema Nervioso Central es el primero en reaccionar a tales disminuciones.

Los síntomas clásicos debidos a envenenamiento por monóxido de carbono comienzan cuando la saturación de la carboxihemoglobina es de aproximadamente un 20 %, manifestándose con ligeros dolores de cabeza. A medida que aumenta la saturación de carboxihemoglobina, los síntomas se tornan severos. Finalmente, a partir del 50 % de saturación se presenta la muerte.

El monóxido de carbono también puede unirse al fierro del citocromo  $aa_3$  de la cadena respiratoria, sin embargo, para que esto suceda, la concentración sanguínea debe ser alta, de tal forma que para cuando el monóxido de carbono interrumpa la cadena respiratoria, el paciente no tendrá el suficiente oxígeno para mantenerse con vida.



Sjöstrand y posteriormente Engstedt lograron descubrir que el --- cuerpo humano es productor de monóxido de carbono (2,3). Esta producción endógena es proveniente de la misma hemoglobina y específicamente del Heme, de tal manera que al catabolizarse la hemoglobina, se produce por cada mol de Heme uno de monóxido de carbono. Coburn estudió la producción endógena de monóxido de carbono y -- concluyó que es de  $0.007 \pm 0.0003$  ml. de monóxido de carbono por minuto (equivalente a 0.31 % de carboxihemoglobina), por lo que - los niveles normales de carboxihemoglobina nunca serán en reali-- dad iguales a cero, ni tampoco mayores al 1 % (4).

El humo del cigarro contiene invariablemente monóxido de carbono. No obstante, la cantidad producida varía según el contenido del - cigarro así como del estilo personal de fumar. Generalmente, el - humo del cigarro posee entre 200 y 800 PPM de monóxido de carbono siendo los valores mayores cuando se trata de puro o pipa.

El humo del cigarro no tan sólo posee monóxido de carbono como agente tóxico, sino que es una gran diversidad de sustancias, de-- pendientes del contenido del cigarro. En un estudio realizado al respecto (5), se apreciaron 3 fases en el humo del cigarro : Una fase de vapor, una fase gaseosa y una fase de partículas. En la - fase de vapor se encontraron sustancias tales como acetaldehído, isopreno, acroleína, diferentes cetonas, benceno y tolueno, mientras que en la fase gaseosa predominaba el monóxido de carbono y el ácido cianhídrico. La fase de partículas estaba compuesta por nicotina. Todos los compuestos anteriormente mencionados son tóxicos para el cuerpo humano, destacando entre ellos la nicotina, -- sustancia a la que actualmente se le valora con un alto grado de toxicidad.



El porcentaje de carboxihemoglobina de una persona fumadora, dependerá de varios factores, considerándose los más importantes, - la marca del cigarro (su contenido), el modo personal de fumar, - el número de cigarros fumados y la contaminación ambiental.

Las intoxicaciones por monóxido de carbono pueden clasificarse, - dependiendo de los niveles de carboxihemoglobina, en agudas y crónicas. Los primeros estudios sobre envenenamientos con monóxido de carbono se debieron a intoxicaciones agudas, debido principalmente a las exposiciones en minas donde se efectuaban explosiones y a los intentos de suicidio sucedidos en cocheras cerradas en -- las que se dejaba encendido el automóvil. En todos estos estudios se aceptaba que en el rango comprendido entre el 0 y 20 % de carboxihemoglobina, se carecía de manifestaciones clínicas.

Recientemente, los casos de intoxicaciones crónicas (ligeras) han cobrado importancia y los trabajos realizados han sido enfocados tanto a los efectos de la contaminación ambiental como a los producidos por el humo del cigarro.

El presente trabajo pretende fundamentalmente establecer el grado de saturación de carboxihemoglobina producido por fumar cigarros que se consumen en la localidad, pues como se mencionó, el porcentaje de carboxihemoglobina en una persona fumadora depende, entre otros factores, del contenido del cigarro. Además, los resultados se compararán con aquellos obtenidos en personas no fumadoras. -- Los pacientes para este estudio fueron tomados al azar.

## MATERIAL Y METODOS

En el presente trabajo se analizaron un total de 158 muestras sanguíneas, de pacientes escogidos al azar.

*Se tomarán muestras sanguíneas de personas escogidas al azar*  
*se determinará*  
La carboxihemoglobina fue determinada mediante un método espectrofotométrico, basado en la relación de dos absorbancias, leídas a dos longitudes de onda diferentes (6,7,8).

### TECNICA :

- 1.- La muestra sanguínea puede tratarse con anticoagulante (heparina o E.D.T.A.) o bien, puede tomarse directamente sin necesidad de anticoagulante en caso de analizarse de inmediato. A 10 ml. de la solución de hidróxido de amonio 0.1M (R-1) se a-



ñaden 0.05 ml. de la muestra sanguínea y se agita bien.

- 2.- Se deja reposar por varios minutos para completar la hemólisis. Si la solución presenta turbidez después de la hemólisis, se centrifuga y se trabaja con el sobrenadante.
- 3.- Se transfiere una porción de la solución a una cuveta y se añaden aproximadamente unos 5 mg. de ditionito de sodio (R-2). Se agita por inversión.
- 4.- Se lee en el espectrofotómetro (+) contra un blanco de hidróxido de amonio 0.1M (R-1). Las lecturas se harán a dos longitudes de onda, 555 y 488 nm.
- 5.- Se calcula la relación de absorbancias 555/488 y se obtiene el porcentaje de carboxihemoglobina mediante la curva de calibración.

Las lecturas se deben hacer tan rápido como sea posible después de que el ditionito se haya disuelto. Debe evitarse el usar una cantidad excesiva del hidrosulfito ya que causaría turbidez y consecuentemente error en las lecturas.

Valores normales : Hasta 1 % de carboxihemoglobina.)

#### PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION :

Solamente dos puntos de calibración se necesitan: Uno con 100 % de hemoglobina y otro con 100 % de carboxihemoglobina.

(+) Coleman Junior II

- 1.- En un matraz Erlen meyer de 50 ml. se colocan 5 ml. de sangre que preferentemente sea de un no fumador con un mínimo de exposición al monóxido de carbono.
- 2.- Se pasa lentamente una corriente de oxígeno al matraz, mismo que estará en posición horizontal. El oxígeno se obtiene del tanque (R-3). El matraz se rota sobre su eje durante 15 minutos.
- 3.- La muestra se trata según la técnica. Así se obtiene el punto de 100 % de hemoglobina en la curva de calibración.

El punto de 100 % de carboxihemoglobina se <sup>obtiene</sup> llevando a cabo el mismo procedimiento, sólo que se utiliza monóxido de carbono en lugar de oxígeno. El monóxido de carbono se obtiene en el momento en que se utiliza y debe manejarse con extremo cuidado y bajo campana.

#### PREPARACION DEL MONOXIDO DE CARBONO :

- 1.- En un matraz de 500 ml. se colocan 100 ml. de ácido fórmico - (al 97 %) (R-4).
- 2.- Se inserta en la parte superior del matraz, un tapón que contiene un embudo de separación y una varilla, que es el tubo de salida de gases.
- 3.- El tubo de salida de gases es llevado por su extremo terminal mediante un buen tapón, a otro matraz que contiene una solución de hidróxido de sodio (R-5). El tubo debe estar sumergi-



do en el líquido. Mediante otra varilla, se forma una salida para los gases que se están concentrando, siendo este conducto, el tubo de salida del monóxido de carbono.

- 4.- Se colocan 100 ml. de ácido sulfúrico concentrado (R-6) en el embudo y se deja caer violentamente un poco sobre el matraz - que contiene el ácido fórmico. A medida que se calienta el matraz, se disminuye el flujo de ácido sulfúrico.
- 5.- Para dar tiempo a que el aire contenido en los matraces sea - desalojado, se dejan pasar 5 minutos antes de recoger monóxido de carbono.

NOTA : Es absolutamente fundamental que esta manipulación se realice bajo la campana, estando el ventilador en marcha. La puerta de la campana debe bajarse lo más posible.

REACTIVOS :

R-1 Hidróxido de amonio, 0.1M. Se toman 7 ml. de hidróxido de amonio concentrado, y se aforan a 1 litro usando agua destilada.

R-2 Ditionito de sodio (hidrosulfito de sodio). Se utilizan aproximadamente 5 mg. para cada lectura.

R-3 Tanque de oxígeno. Debe contener 90 % o más de oxígeno.

R-4 Acido fórmico. Al 97 %.

R-5 Solución de hidróxido de sodio. A 200 ml. de agua destilada,



se le añaden 2 o 3 lentejas de hidróxido de sodio.

R-6 Acido sulfúrico concentrado.

## RESULTADOS

La figura 1 muestra la gráfica de la relación de absorbancias contra concentración de carboxihemoglobina.

En la tabla 1 se encuentran los resultados de los 94 fumadores a-nalizados; mientras que en la tabla 2 se muestran los resultados de los 64 no fumadores.

El promedio de los fumadores fue de 5.4 % de carboxihemoglobina, siendo su desviación estándar + 4.21. En cambio, la media de los no fumadores resultó ser de 0.7 % de carboxihemoglobina y se obtuvo una desviación estándar de + 1.55. Esto se puede apreciar en - la tabla 3.



Figura 1

CURVA DE CALIBRACION DE LA CARBOXIEMOGLOBINA

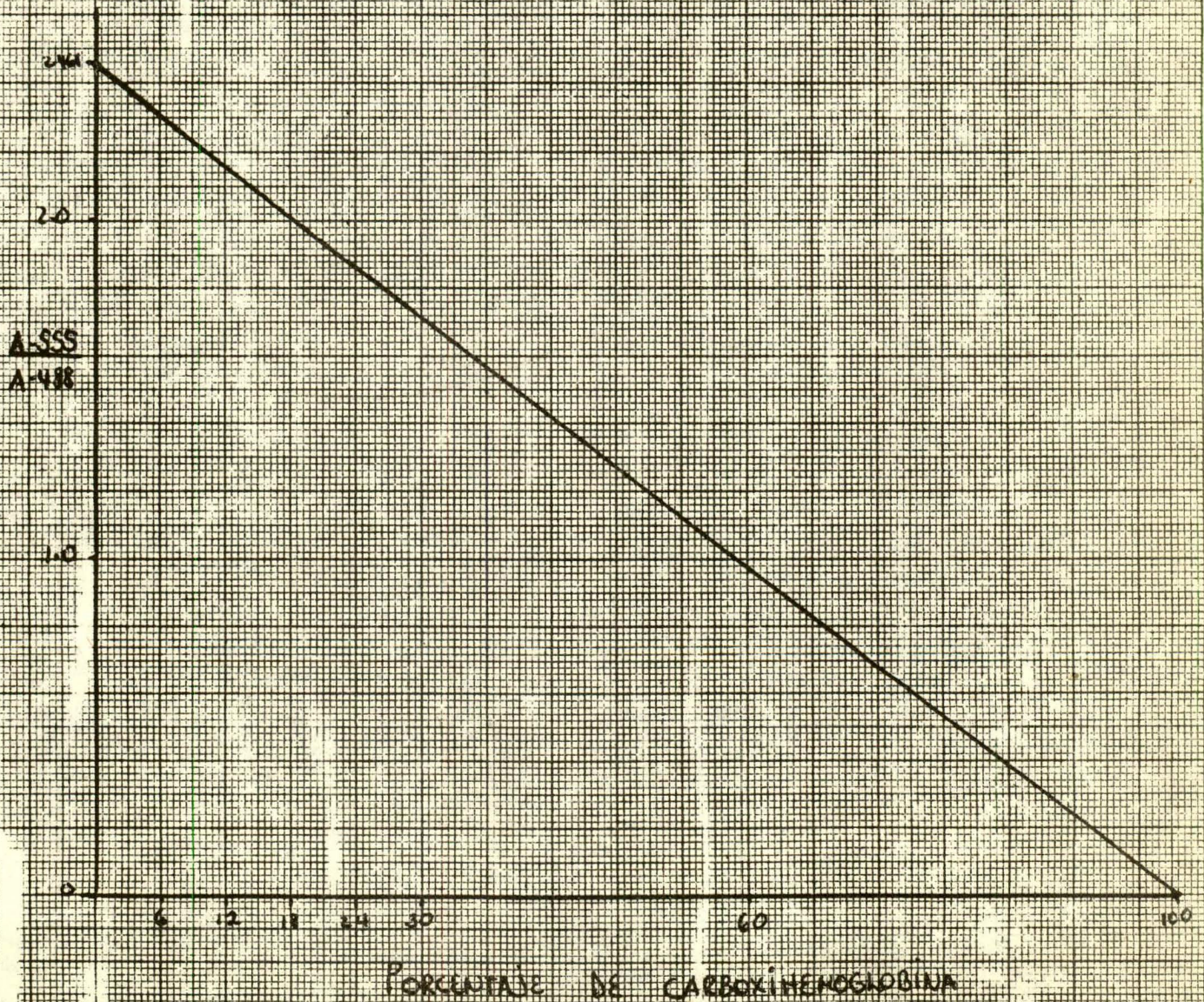




TABLA 1

RESULTADOS DE LAS PERSONAS FUMADORAS

No	% de COHb(+)	No	% de COHb	No	% de COHb
1	16.4	33	1.7	65	6.0
2	13.0	34	1.6	66	4.2
3	12.2	35	1.6	67	2.0
4	8.0	36	6.0	68	3.8
5	2.4	37	12.4	69	9.0
6	2.0	38	9.6	70	3.0
7	4.0	39	7.2	71	10.4
8	1.8	40	2.2	72	2.0
9	20.0	41	4.1	73	4.4
10	1.2	42	16.0	74	8.2
11	2.0	43	3.0	75	2.2
12	1.4	44	2.2	76	3.1
13	2.4	45	2.8	77	4.0
14	3.2	46	1.6	78	8.6
15	5.4	47	2.8	79	2.0
16	15.2	48	3.0	80	5.2
17	10.4	49	4.0	81	1.8
18	1.6	50	4.0	82	11.1
19	1.8	51	1.8	83	3.3
20	6.0	52	9.6	84	2.0
21	12.4	53	2.2	85	1.8
22	10.0	54	7.8	86	3.0
23	7.2	55	11.4	87	9.6
24	2.2	56	2.8	88	2.0
25	4.0	57	6.8	89	3.1
26	16.0	58	7.0	90	4.2
27	2.0	59	8.0	91	3.0
28	3.0	60	2.2	92	6.5
29	2.2	61	4.2	93	12.4
30	2.8	62	3.4	94	2.0
31	6.7	63	2.0		
32	3.0	64	6.8		

(+) COHb = Carboxihemoglobina

TABLA 2

RESULTADOS DE LAS PERSONAS NO FUMADORAS

No	% de COHb	No	% de COHb
1	0.5	33	0.0
2	0.0	34	0.1
3	0.0	35	0.0
4	0.0	36	1.4
5	0.0	37	0.8
6	0.0	38	0.0
7	0.6	39	0.0
8	0.0	40	0.2
9	0.6	41	0.1
10	0.0	42	0.5
11	1.8	43	0.6
12	0.2	44	0.0
13	0.6	45	0.0
14	0.0	46	0.2
15	6.4	47	0.2
16	2.6	48	3.3
17	1.2	49	0.0
18	0.0	50	2.4
19	0.0	51	1.0
20	9.8	52	0.8
21	0.0	53	0.0
22	0.2	54	0.0
23	0.3	55	0.0
24	0.1	56	0.0
25	0.4	57	0.0
26	0.0	58	1.1
27	0.0	59	0.0
28	0.0	60	0.0
29	0.0	61	4.8
30	0.0	62	0.1
31	0.2	63	2.2
32	0.0	64	0.0



TABLA 3

MEDIAS Y DESVIACIONES ESTANDAR

	No	MEDIA	DESVIACION ESTANDAR
FUMADORES	94	5.4 %	$\pm 4.21$
NO FUMADORES	64	0.7 %	$\pm 1.55$

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

Como ya se mencionó, los casos de intoxicaciones crónicas han cobrado importancia en la actualidad. Los trabajos realizados recientemente, han sido enfocados tanto a los efectos de la contaminación ambiental como a los del humo del cigarro (9,10,11,12,13). En todos estos trabajos se intenta relacionar el porcentaje de carboxihemoglobina con la respuesta del sistema nervioso central o de la retina, a una prueba que se les impone. Por ejemplo, O'Hanlon (14) relacionó las respuestas a diferentes intensidades de luz, de pacientes con porcentajes de carboxihemoglobina conocidos.

Sin embargo, tras cada trabajo viene su crítica. Se han criticado los trabajos en base a su falta de reproducibilidad y a su método



empleado para medir los efectos de la carboxihemoglobina. Los resultados aún no han sido definitivos, ya que se han reportado datos contradictorios y no ha surgido uno que sea definitivo.

Las conclusiones que más coinciden entre la mayoría de los investigadores son :

- 1) La contaminación ambiental por monóxido de carbono en las grandes urbes (de los EUA) aún no ha llegado a niveles alarmantes.
- 2) Concentraciones de aproximadamente 10 % de carboxihemoglobina en personas expuestas frecuentemente, no repercuten en sus funciones.

Los niveles que han sido reportados en cuanto a saturación de carboxihemoglobina por el humo del cigarro, oscilan entre un 2 y 20 % , estando en concordancia con los aquí obtenidos (1.2-20.0) -- (15).

El hecho de haberse encontrado valores del 0.0 % en personas no fumadoras, se debe definitivamente al método usado. Esto significa que la espectrofotometría no es el método de elección si se deben obtener datos muy precisos.

En realidad, la verdadera importancia que tiene el establecer el porcentaje de carboxihemoglobina en una persona fumadora, no es el determinar qué tanto daño está ocasionando el monóxido inhalado, sino que este porcentaje podría ser un valioso índice de la saturación de otras sustancias más tóxicas y que también son encontradas en el humo del cigarro.

#### RESUMEN

Se determinó el porcentaje de carboxihemoglobina espectrofotométricamente a 94 personas fumadoras y a 64 no fumadoras, escogidas al azar. Los fumadores resultaron con una media de 5.4 % de carboxihemoglobina, mientras que en los no fumadores resultó ser 1.2 %.



#### BIBLIOGRAFIA

- 1.- Rodkey, F. et al. 1969. Oxygen and carbon monoxide equilibria of human adult hemoglobin at atmospheric and elevated pressure. *Blood*, 33:57.
- 2.- Sjöstrand, T. 1949. Endogenous formation of carbon monoxide in man under normal and pathological conditions. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1:201.
- 3.- Engstedt, L. 1957. Endogenous formation of carbon monoxide in hemolytic disease. *Acta Med. Scand.*, 159 (Suppl 322).
- 4.- Coburn, R.F., Blakemore, W.S., and Forster, R.E. 1963. Endogenous carbon monoxide production in man. *J. Clin.*

Invest.- 42:1172-1178.

- 5.- Batting, K., and Driscoll, P. 1975. Smoking. Weiss, B., and Laties, V., Behavioral Toxicology. 5th. Ed. Board, New York.
- 6.- Van Assendelft, O.W. 1970. Spectrophotometry of hemoglobin derivatives. Springfield, III, Charles Thomas, publisher.
- 7.- Van Kampen, E.J., and Zijlstra, W.G. 1965. Adv. Clin. Chem. 8:141.
- 8.- Klendshoj, N.C., Feldstein, M., and Sprague, A.L. 1955. J. Biol. Chem. 183:297.
- 9.- Beard, R.R., and Grandstaff, N. 1970. Carbon monoxide exposure and cerebral function. In Biological effects of carbon monoxide. Annals of the New York Academy of Sciences, 174: 385-395.
- 10.- Stewart, R.D. et al. 1975. The Effect of Carbon Monoxide. In Weiss, B., and Laties, V., Behavioral Toxicology. 5th. Ed. Board, New York.
- 11.- Guillerm, R. et al. 1976. Effects of Carbon Monoxide on performance in a vigilance task. In Thornton, R.E. Thornton, Churchill Livingstone.
- 12.- Dunn, P.J., and Jo, T. 1976. The effects of a reduced draw resistance cigarette on human smoking parameters and alveolar Carbon Monoxide levels. Smoking Behaviour.



In Thornton, R.E. Thornton, Churchill Livingstone

- 13.- Guillerm, R., and Radziszewski, E. 1976. Analysis of smoking pattern including intake of carbon monoxide and influences of changes in cigarette design. In Thornton, R.E. Thornton, Churchill Livingstone.
  
- 14.- O'Hanlon, J.F. 1975. Preliminary studies of the effects of carbon monoxide on vigilance in man. In Weiss, B., and Laties, V., Behavioral Toxicology. 5th. Ed. Board, New York.
  
- 15.- Jones, G.W., Yant, W.P., and Berger, L.B. 1923. U.S. Bur. Mines Rept. Invest. No. 2539.